日本水産学会誌

第二十三巻 第五号

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 23, No. 5, 1957

目 次

アコヤ貝 *Pinctada martensii* (Dunker) の養殖真珠の品質と養殖深度との関係
—II. ……渡部哲光・岡田弥一郎・宮村光武・井上義雄……235
ニジマスのビブリオ菌病の被害防除に関する研究 予報……保科利一・国峰一声・高橋 猛……241
イワシ刺網の長さの方向における罹網分布に及ぼす縫目の影響
……野村正恒・三次信輔・吉牟田長生・中野麟一……245
海藻類の核酸に関する研究 特にアサクサノリの癌腫病に於けるDNA含量の
特異性について……片山輝久・藤山虎也……249
水産物の腐敗に関する研究—XXIV. 貝類の腐敗について(英文)……清水 亘・日引重幸……255
魚類筋肉の解糖作用に関する酵素学的研究—I. フォスフォリラーゼ作用
……小野豊樹・永山文男……260
水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—V.
コイ筋肉中の核酸系化合物の凍結貯蔵中における変化に就いて……斉藤恒行・新井健一……265
トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキシドの定量法について
—Dyer 法の検討……橋本芳郎・岡市友利……269
マグロ筋肉の脂質—III. 血合筋及び普通筋のレシチン……五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男……273
マグロ筋肉の脂質—IV. 血合筋及び普通筋のケファリン……五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男……278
水産動物筋肉のコリン含量について……森 高次郎・鴻巣章二・宮川昭次……283
雑 録……285

昭和三十二年
日本水産学会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

CONTENTS

* Studies on the relationship between the qualities of cultured pearls and culture-depth—II.
Norimitsu WATABE, Yaichiro OKADA, Mitsutake MIYAMURA and Yoshio INOUE ······ 235

* Preliminary studies on control of the vibrio-disease of rainbow-trout
················· Toshikazu HOSHINA, Issei KUNIMINE and Takashi TAKAHASHI ······ 241

* On the horizontal distribution of catch influenced by the seam of net in sardine drift nets
················· Masatsune NOMURA, Shinsuke MITSUGI, Chosei YOSHIMUDA and Rin-ichi NAKANO ······ 245

* Studies on the nucleic acid of algae with special reference to the desoxyribonucleic acid contents of the crown-gall tissues developed on *Porphyra tenera* KJELLM. ······ Teruhisa KATAYAMA and Toraya FUJIYAMA ······ 249

Studies on putrefaction of aquatic products—XXIV. On spoilage of some shell-fishes ··· Wataru SIMIDU and Sigeyuki HIBIKI ······ 255

* Enzymatic studies on the glycolysis in fish muscle—I. Activity of phosphorylase ···································· Toyoki ONO and Fumio NAGAYAMA ······ 260

* Studies on the organic phosphates in muscle of aquatic animals—V. Changes in muscular nucleotides of carp during freezing and storage
······························ Tsuneyuki SAITO and Ken-ichi ARAI ······ 265

* On the determination of trimethylamine and trimethylamine oxide. A modification of the DYER method
···························· Yoshiro HASHIMOTO and Tomotoshi OKAICHI ······ 269

✓ * Lipids of the muscle of tuna, *Thynus orientalis*—III. Lecithins of the dark-colored and ordinary mucles
························· Hisanao IGARASHI, Koichi ZAMA and Muneo KATADA ······ 273

✓ * Lipids of the muscle of tuna *Thynus orientalis*—IV. Cephalins of the dark-colored and ordinary muscles
························· Hisanao IGARASHI, Koichi ZAMA and Muneo KATADA ······ 278

* Choline content of the muscle of aquatic animals
·························· Takajiro MORI, Shōji KONOSU and Shoji MIYAGAWA ······ 283

* Translation by George Kando, BCF Seattle (1959).

* In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokyo University of Fisheries, Shiba-kaigandori 6-chome, Tokyo, Japan.

会　　告

第二回原子力シンポジウム講演募集

日本学術会議主催，関係学協会共催の第二回原子力シンポジウムを下記により開催することになりまし
た。会員各位はふるつて講演募集に応ぜられるようおすすめいたします。

記

1. **期　　日**　昭和 33 年2月 7，8，9 日
2. **場　　所**　東京神田学士会館および一橋講堂
3. **研究発表申込〆切**

（i） 題目，分類，著者（講演者に○印をつける）及び所属学会を 12 月5日までに葉書で申込まれたい

（ii） 規定の用紙に書き込んだアブストラクトを 12 月 20 日までに（用紙は題目申込受理と同時に学術会議から送られる）到着するように（書留が望ましい）

4. **申 込 先**　東京都台東区上野公園

日本学術会議

第二回原子力シンポジウム係

5. **研究の分類**

（A） 物理学，原子炉

（B） 化学，材料（物性物理学を含む）

（C） 医学，生物学，アイソトープ利用（但し，アイソトープ利用は共通問題を主とし，各個の専門領域に属する研究は採用しない。

6. **研究の内容と発表**

（i） 研究の内容は原則として未発表のものとする。

（ii） 研究の発表は一人一回登壇に限る。

（iii） 一般の研究発表は1人 15 分以内とし，質問時間は5分以内とする。

7. **採　　否**　学術会議内に選考委員会がつくられ，提出されたアブストラクトによつて選考される。研究は完成されたものであり，結果が明瞭なものでなければならない。

8. **備　　考**

（i） 研究発表のこのほかに，綜合講演及び集中討論が計画されている。

（ii） 不明の点は，書面をもつて学術会議原子力シンポジウム係あて問合せられたい。

日本水産学会投稿規定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する２名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿１篇の長さは原則として刷上り４頁（表題. 200 語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（7.200 円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと,）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

投稿に関する注意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事)。尚文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。X＝(1＋P)（N—50）円 P：頁数, N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原稿の書き方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に２段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。

abcd イタリ	abcd g, ゴチ	Abcd (大)	ABCD s. c.	OO\1)/	A /12\
Italic	**Gothic**	CAPITAL	CAP. & SMALL CAP.	うわつき (かたつき)	したつき

4. **表題**　主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（Ⅰ，Ⅱ）にして（——）でつなぎ数字の後に（.）をつける。
英文主題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。
5. **著者名**　邦文では連名の時は（・）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。
6. **所属**　著者名の下に（　）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Italic* にする。
7. **図表**　表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第１図，第１表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1，Table 1）を用いる。
8. **附図**　附図は１頁大の図版で（Plate）とし，なるべく図末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（Ⅰ，Ⅱ）を用いる。
9. **生物名**　邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（　）で囲まない事。
10. **化学名**　邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英文を用いねばならない時は Small で入れる。
11. **人名**　まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。
12. **単位及び記号**　単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω, μ, γ, N, M, pH，及び方位の N, S, E, W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ l，高さ h）の如く *Italic* にする。
13. **邦文本文中の外国語**（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。
14. **文献**　本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビヤ数字（1,2,3）を用い片カッコ（1)，パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（：）で切る。雑誌名の略し方は慣用方に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は **Gothic** にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（——）で略してもよい。
　文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。
15. **脚註**　脚註は数字でない記号（*，**）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

アコヤ貝 (*Pinctada martensii*, (DUNKER)) の養殖
真珠の品質と養殖深度との関係——II.

渡部哲光・岡田弥一郎・宮村光武・井上義雄
(三重県立大学水産学部) (三重県水産試験場)

Studies on the Relationship between the Qualities of Cultured Pearls and Culture-depth——II.

Norimitsu WATABE, Yaichiro OKADA,
(Prefectural University of Mie)
Mitsutake MIYAMURA and Yoshio INOUE
(Mie Prefectural Fisheries Experimental Station)

Continued from the former experiments, the authors studied the relationship between the qualities of cultured pearls and the culture depth in Hamajima Bay, Matoya Bay and Kagami Ura, Mie Prefecture, the hydrographical conditions of which differ remarkably with one another (Figure 1). After nucleusinsertion pearl oysters, *Pinctada martensii* (DUNKER), were transported to those three bays and cultured for 4 months from August, 1953, at the depth of 1, 2, 3, 4, 5, and 6 meters below the sea surface. On December, 1953, pearls were harvested and their qualities were examined by visual inspection. The results were as follows.

1) In all the three bays, the rate of appearance of yellowish pearls was larger in shallower zones (1, 2 and 3 meters), that of pinkish and splendidly lustered pearls being larger in deeper zones (4, 5, and 6 meters). (Table 1, 2 and 3).

2) The results agree fairly well with those of the former experiments.

3) The light intensity is stronger and water temperature is higher in the shallower zones in which the former seems especially to affect the pearl oysters to produce yellow pigment more, consequently yellowish pearls more than in the deeper zones.

4) Less variations of water temperature and specific gravity may be the causes of forming pinkish and splendidly lustered pearls in the deeper zones.

アコヤ貝養殖真珠の品質は挿核技術，ピース（移殖外套膜切片）の取り方，母貝の育成法等の人為的条件と養殖海域の環境条件等によつて決定されると思われるが，その一つに養殖深度の問題がある。即ち，籠を用いる真珠養殖法では，養殖籠の垂下深度は海面より 2 m 前後であるが，この深度は操作の便宜上採用されているだけで，真珠の品質に対する考慮は殆ど為されていないようである。そこで小林[1] 及び渡部[2] は養殖深度と品質との関係を調べ，浅吊りの場合ほど黄色系統及び，光沢優秀のものが多く得られることを明かにし，現行の 2 m という垂下深度も余り適当でないことを指摘した。然し，これらの実験は何れも，同一の養殖場において実施したもので，その結果は，業者の一説と一致するとはいえ，更にその普遍性を検討する余地があつた。そこで筆者等は，一箇所で挿核手術を施したアコヤガイを海洋条件の著しく相違する浜島湾，的矢湾，鏡浦に運び，種々の深度に垂下して養殖を行い，品質と深度との関係を調べた。その結果をここに報告する。

1956 年 12 月 25 日受理

* 大要は，日本水産学会昭和 29 年度大会にて発表した。なお，費用の一部は昭和 28 年度岡田弥一郎に与えられた文部省科学研究費（各個研究）による。

実験材料及び方法

1. 材 料

a) 母貝，三重県浜島湾弁天島三重県水産試験場養殖場で育成排卵を行つた3年生アコヤガイ *Pinctada martensii* (DUNKER) を用い，細胞貝には2年生のものを選んだ。

b) 核，真珠の重量測定のためには，使用する核の重量を一定にする必要があるので，重量 0.070 g. のものを秤量撰別して使用した。

2. 挿核作業及び養殖法　1953 年 8 月 7 日，7 人の作業員により，1貝につき袋入れ* 1，浮し** 2，計3ケ入れの挿核施術を行い，施術貝は個人の技術による真珠の品質の差異を考慮して，1 籠に同一作業員の貝が偏在せぬように配分して仮吊り籠に入れ，1週間静養させた。静養後，8 月 17 日，本籠に移し，これらを弁天島，的矢湾佐藤養殖場，鳥羽湾鏡浦共栄水産養殖場に輸送し，各個所 1 m，2 m，3 m，4 m，5 m，6 m の深度で垂下，約4ケ月間養殖を行つた。各籠の収容貝数は 25 個，各深度4籠，実験貝総数 1800 個であつた。

3. 海洋観測　各養殖場とも，水温，比重の観測は各深度毎日乃至5日間隔で行い，その他養殖期間中6回，塩素量，水素イオン濃度，酸素量，燐，硅素量等の測定を行つた。

4. 採珠及び品質の判定　1953 年 12 月 23 日より同月 25 日の間に，各養殖場にて真珠を挿核部位及び深度別に採取し，塩水，石鹸水，清水にて洗滌後，40°C で 24 時間乾燥し，品質を鑑定した。即ち，白珠，稜柱珠，著しい汚み突起珠を除き，1個宛秤量後，色は黄色系統（黄色の少しでも入つているもの），ピンク系統（黄色以外のものでピンク，虹色の入つているもの）及びその他に分け，光沢は特に優れたものと然らざるものとに分けた。之等の分別は経験のある筆者等が肉眼で決定した。

結　　果

1. 真珠の重量

各地域における深度別及び挿核部位別の真珠重量は第1表に示す通りで，深度による差は浜島にのみ，2m 層が 1 m および 6 m 層より大で，その他の層には差が認められない。なお，挿核部位並びに 3 地域相互間にも差がなかつた。(信頼度 95 %で検定，以下これに準ずる)。

2. 真珠の色

a) ピンク色の出現率，ピンク系統の真珠の出現率は第2表に示す如く，95 %の信頼度で検定すると，浜島では 4 m ＞ 6 m ＞ 5 m ＞ 3 m ＞ 2 m ＞ 1 m，的矢では，4 m=5 m=6 m ＞ 1 m=2 m=3 m，

Table 1. Mean weight of pearls in different culture-depth and different parts of the gonad where nuclei were inserted.

Fukuro……A part of the gonad near the intestinal loop.
Ukashi……Parts of the gonad near the retractor at the base of the foot.
Unit……mg.

Culture-depth \ Locality / Gonad	Hamajima Bay		Matoya Bay		Kagami Ura	
	Fukuro	Ukashi	Fukuro	Ukashi	Fukuro	Ukashi
1 m.	117.5±7.1	110.3±6.0	118.1±5.7	115.8±4.7	111.6±5.1	112.5±4.3
2 m.	124.0±8.8	125.5±5.3	114.8±6.2	117.7±4.4	116.1±6.0	110.7±4.9
3 m.	123.5±8.7	116.4±4.8	117.7±6.0	111.4±4.1	115.3±4.9	111.9±4.1
4 m.	116.0±5.9	118.2±5.9	115.6±5.4	116.8±4.5	114.6±4.5	112.0±5.0
5 m.	122.9±6.3	120.3±5.8	120.2±6.9	117.9±6.9	116.6±4.0	111.9±3.5
6 m.	118.1±5.3	113.0±5.4	117.8±5.7	115.1±4.6	108.0±4.9	117.7±4.8

* 腸の彎曲部附近の生殖巣に核を挿入することを云う
** 足の基部にある収束筋の左右に核を挿入することを云う

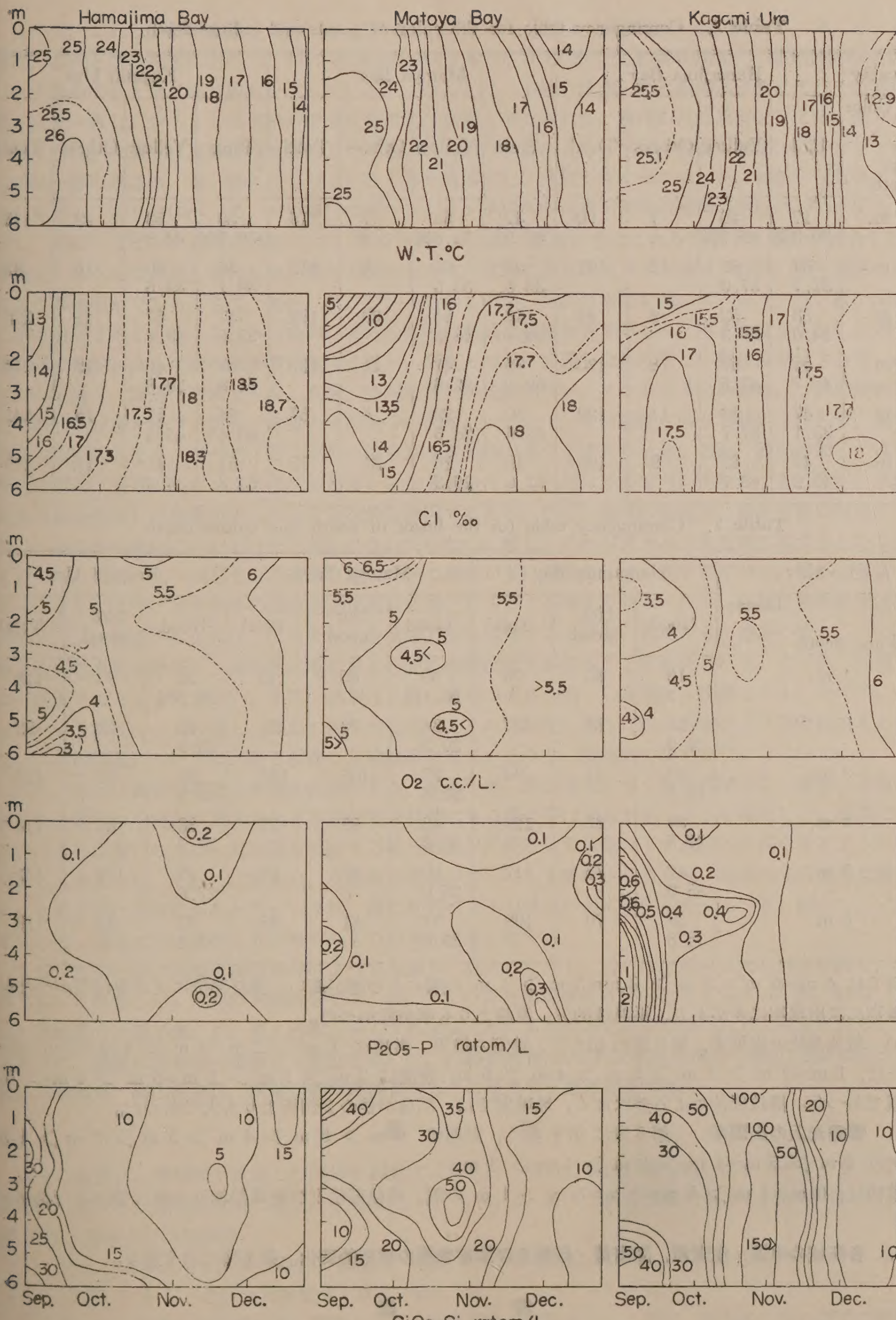


Fig. 1. Seasonal changes of the hydrographical conditions in Hamajima Bay, Matoya Bay and Kagami Ura.

Table 2. Contingency table for the color of pearls and culture depth.

Locality	Hamajima Bay				Matoya Bay				Kagami Ura			
Color / Culture depth	Pink	Yellow	Others	Total	Pink	Yellow	Others	Total	Pink	Yellow	Others	Total
1 m.	17 20.3%	46 65.7%	7	70	47 40.9%	61 53.0%	7	115	36 30.5%	53 44.9	29	118
2 m.	34 31.7	61 57.0	12	107	43 38.5	61 54.5	8	112	36 39.1	40 43.5	16	92
3 m.	33 34.0	52 55.3	9	94	48 36.4	64 48.5	20	132	47 37.6	67 53.6	11	125
4 m.	55 45.7	57 47.5	8	120	75 59.1	41 32.3	11	127	59 51.8	42 36.8	12	114
5 m.	47 39.1	62 51.7	11	120	30 52.6	22 38.6	5	57	64 45.4	61 43.3	16	141
6 m.	47 43.2	53 48.7	9	109	49 51.6	25 26.3	21	95	64 53.8	41 34.5	14	119

Table 3. Contingency table for the luster of pearls and culture depth.

Locality	Hamajima Bay			Matoya Bay			Kagami Ura		
Luster / Culture depth	Good	Not good	Total	Good	Not good	Total	Good	Not good	Total
1 m.	10 14.3%	60	70	30 26.1%	85	115	24 20.3%	94	118
2 m.	26 24.3	81	107	34 30.3	78	112	22 23.9	70	92
3 m.	23 24.5	71	94	27 20.5	105	132	32 25.5	93	125
4 m.	33 27.5	87	120	42 33.0	85	127	33 29.0	81	114
5 m.	42 35.0	75	117	20 35.0	37	57	39 27.6	102	141
6 m.	39 35.8	70	109	34 35.8	61	95	37 31.1	82	119

鏡浦では 4 m=6 m> 5 m > 2 m=3 m > 1 m の順にその率が高い。挿核部位による差はなかつたが，地域別には出現率に差があり，浜島は的矢，鏡浦よりも率が低かつた。

b) 黄色系統の出現率，第2表の 如くで，検定の結果，浜島は 1 m > 2 m=3 m > 4 m=5 m=6m. 的矢は，1 m=2 m > 3 m > 5 m > 4 m > 6 m，鏡浦は 3 m > 1 m > 2 m=5 m > 4 m > 6m の順であつた。挿核部位による差はなく，地域別では，浜島が他の2個所よりも大であつた。

3. **優秀光沢の出現率**　第3表に示す如く，浜島は，6 m > 5 m > 4 m > 3 m > 2 m > 1 m, 的矢は 6 m > 5 m=4 m > 2 m > 1 m > 3 m,

鏡浦は，6 m=4 m > 5 m=2 m=3 m > 1 m の順。挿核部位及び地域間相互の差は認められなかつた。

4. **各海域の水温，塩素量，酸素量，硅素及び燐含有量の季節的変化。** 第1図に示す通り。

考　　察

以上の結果によれば，黄色系統の真珠は，浜島，的矢では，1 m 層が最も多く，2 m および 3 m 層がこれに次ぎ，鏡浦では，3 m 層が最も多く，1 m，および 2 m 層がこれに次いでいる。

従つて，これら3個所を通じて，3 m 以浅の浅層ではそれ以深よりも黄色の真珠が多い。又，ピンク系統は，これと逆の関係にあつて，3 m 以浅では少く，4, 5, 6 m 層では出現率が高い。優秀光沢のものもピンク色のそれと殆ど同じ傾向を示している。このことは，小林[1] 渡部[2] の浜島湾迫子浦にて行つた実験結果と全く一致し，少くとも三重県沿岸では普遍的な事実と考えられる。真珠の色の原因としては，種々の説が唱えられ，大森[3] は真珠層の薄層によつて起される光の干渉によると述べ，内田[4] 渡部[5] は，ピンク色のものは一層の厚さが，黄，緑色のものより薄く且つ規則正しい累層をなす事を示した。神前[6] は真珠に含有されるポルフィリン体が，又，田中等[7] はポルフィリン体以外の色素が真珠の発色の原因の一つであると報告し，高岡[8] はピンク真珠に Mn が多い事を指摘している。真珠の色はこれらの種々の要因の複合した結果発せられるものと考えられるが，黄色系統のものは，真珠に含まれるアコヤガイ特有の黄色色素の存在による事は明かである。さて，黄色，及びピンク色のものが，何れの海域を問わず，夫々，浅い層，深い層に多く出現することは，これらの層が，各色の発現に共通な要素を有するものと考えねばならない。然し，現在迄に観測したる海域の諸要素に関する限り，深度との間に共通した特に著しい関係は見出されない。唯何れの海域も，深層は浅層よりも，水温，比重の変異が比較的少い。アコヤガイの活動は，これら要素の変化に著しい影響を受けるから，変動の比較的少い深層においては，その活動が余り不規則とならず，真珠の累層が規則的となり，従つて，ピンク色の得られる可能性が多いと考えられる。勿論，前述の如く，真珠の発色の原因は複雑で，ピンクの出現率の多い主たる理由は，これら以外の要因にあるのであろうが，水温，比重（塩分濃度）の変動の少いことも副次的な原因であろう。次に，真珠の黄色は，黄色色素の存在によるが，この色素の性状については未だ明かにされていない。然し，これがメラニン系色素に属するという推測も立てられており[9]，浅層では深層よりもこの色の真珠が多い理由として，水中照度が大，即ち，多量の光エネルギーによりアコヤガイの黄色色素形成が旺盛となることが考えられる。なお，一般に夏季は黄色真珠が多く，又，尾田[10]によれば，アコヤガイを南洋方面に移殖すると貝殻，真珠ともに濃金に変る。この事実からも黄色真珠の形成と，貝の受ける光量との間に密接な関係があることが推定される。この他，高温もその一要因であるかも知れない。事実，浅層は，特に真珠の成長の著しい夏季は，深層よりも，2～3°C 或いはそれ以上も高い。光の量と，高温の何れが主因であるかは断定し得ないが，前者がより重要であると考えたい。この問題については，或る程度の実験結果を得ているので，別報にて論ずる[11]。

次に，光沢は真珠の構造と密接な関係があり，渡部[12]は，真珠表面に全く条線模様のない場合，不規則条線及び，霰石の小結晶が散在したり不規則集合状態にある場合等は光沢が悪いことを報告した。深層に光沢優秀のものが多いことは，真珠層を構成する霰石結晶が比較的定常状態の下で規則的成長をするような要因があると考えられ，それには前述の，水温等の変動が少いことも挙げられる。又，真珠の光沢は表面構造の他に色との間にも関係があり[13]ピンク珠，特に虹色ピンクの珠は一般に光沢が優れている。従つて，ピンク系統の多い場合には必然的に光沢優秀のものが多い結果となる。

なお，渡部[2] は，品質は挿核部位によつても異り，袋入れは浮し，或いは押込みに比し巻きが良く，黄色系が多いと報告した。今回の実験結果では，袋，浮しの黄色出現率は各域綜合して夫々 47 %，41% で 95 %の信頼度では差が無いが，更に例数を多くすれば袋入れに黄色が多い結果が得られると考えられる。

終りに，実験に当り種々御便宜と援助を頂いた，佐藤養殖場，及び共栄水産養殖場の各位，並びに前三重県水産試験場長，高山活夫氏，試験場養殖部職員の方々に深甚なる謝意を表する。

摘　　要

真珠の品質と，養殖垂下深度との関係を調査するため，一個所で挿核作業を施したアコヤガイを，三重県浜島湾，的矢湾，鳥羽湾鏡浦に運び，各海域に，1, 2, 3, 4, 5, 6, m の深度で垂下し，1953 年 8 月より 12 月迄，養殖を行つた結果，

1）何れの海域ともに，黄色系統の真珠は，浅吊り（3 m 以浅）に，ピンク，優秀光沢のものは深吊り（3 m 以深）に多く，今迄の実験結果と良く一致した。

2）浅吊りに黄色の出現率の高い原因として，水中照度の大なること，及び，高水温，特に前者の影響が強いと考えられる。

3）深吊りにピンク珠，優秀光沢の多いことは，深層の水温，比重等の変異が小なることが一因と考えら

れる。

文　　献

1) 小林新二郎：真珠の研究，**2**，1—2，40—43（1951）
2) 渡部哲光：日本生物地理学会会報，**16—19**，93—97（1955）
3) 大森啓一：地質学誌，**54**，631—633，33—38（1948）
4) 内田洋一，上田正康：生理生態，**1**，3，171—177（1947）
5) 渡部哲光：真珠の研究，**1**，2，6（1950）
6) 神前武和：生理生態，**1**，4，247—250（1947）
7) 田中正三：真珠研究，**1**，30（1955）
8) 高岡　斎：自然，**10**，8，52（1955）
9) 田中正三：著者宛私信による
10) 尾田方七：同　上
11) 渡部哲光：印刷中
12) Watabe, N：Rep. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie., **2**, 1, 18—25（1955）
13) 渡部哲光：未発表

ニジマスのビブリオ菌病の被害防除に関する研究予報

保科利一・国峯一声・高橋　猛
（東京水産大学）（群馬県水産試験場箱島養鱒場）

Preliminary Studies on Control of the Vibrio-Disease of Rainbow-Trout

Toshikazu HOSHINA, Issei KUNIMINE and Takashi TAKAHASHI

The pressent paper deals with the experiments concerning the effect of sulfadrugs and antibiotics upon a bacterial disease of rainbow-trout. This disease is caused by infection with bacteria designated as *Vibrio piscum var. japonicus* by the senior author. He is desirous to denominate the disease a vibrio-disease of rainbow-trout.

To ascertain the effect of sulfadrugs on therapy or prophylaxis rainbow-trouts inoculated *per os* with the bacteria were tested. During 4 days, they were fed diets containing daily dosage levels of 0.13g and 0.20g of the drugs per one kg of fish. As the Table 1 shows, the mortalities were as follows : control 11.0% and 14.0% ; sulfadiazine 3.5% and 2.5% ; thiasin 0.5% and 0.5% ; sulfamerazine 0.5% and 1.5% ; sulfamine 14.5% and 15.0%.

Next, Bacitracin-Penick, TM-5 and Aurofac-2A were tested in the treatments of the disease among fingerling or yearling rainbow-trouts. The dosages rate were: for Bacitrachin-Penick 1/500 of diet and fed the diet 1/25 of fish weight per day ; for TM-5 and Aurofac-2A 1/300 of diet and fed diet 1/30 per day. The mortalities were as follows : Bacitracin-Penick 3.2% ; control 3.8 % ; TM-5 3.8% ; Aurofac-2A 5.0% ; control 7.8% (see Table 2 and Fig. 1).

最近本邦各地の養鱒場に癤瘡病に酷似したニジマスの伝染病が流行し其の病害甚大なものがある。本病の典型的な病徴は前記疾病に見られるような腫瘍状の患部の形成，或は深部の筋肉に出血性の病変，眼疾、其の他肝臓に於ける出血斑，腸炎，脾臓の腫大乃至融解等の観察されることである。而して本病は伝染性が強く，又病気の経過は一般に速で一度其の発生を見るや病勢頗る熾烈であつて、短期間内に多数の病死魚が続出するに至ることが普通である。

主著者は静岡，鳥取，群馬の各県下の養鱒場に於て本病を調査し，其の病因は *Vibrio* 属菌に基くものであること，又該病菌を *V. piscum var. japonicus* として報告した。本病の病名に就いてはニジマスのビブリオ菌病と呼ぶことを茲に提唱する。著者等は本病の被害防除に関し抗菌剤の応用効果に就いて調べたので其の結果の一部を茲に予報的に報告する次第である。

本研究に要した費用の一部は文部省科学試験研究費による。其の援助に対し深謝する。

1. **サルフア剤の効果** ──本実験は群馬県水産試験場箱島養鱒場に於いて飼育中のニジマス稚魚（餌付後約3ケ月）を用い，200 尾ずつの魚群に分け其の一つを対照魚群，他を試験魚群とし，各群に病菌を混入した餌を1日乃至2日与えてから（各魚群に対し寒天斜面 48 時間培養菌約 50 mg を牛肝臓と乾燥酵母とによくまぜ合せたもの）を1～2日与えてからその翌日或は翌々日より，試験魚群には薬剤を加えた餌を，対照魚群には然らざる餌を与えて飼育し，両者の斃死魚数を比較したものである。薬剤は sulfadiazine, thiasin, sulfameazine, sulfamine の4種を用い用量は魚体重 1 kg 当り1日 0.13 g 及び 0.2 g とした。調餌は正確に秤量した薬剤に同量の重曹を加えて，これを乾燥粉末料によく混和した上，生鮮餌料を加えて充分にまぜ合せ適度の硬さの練り餌とした。その組成は牛肝臓 30%，コマセ 50%，酵母 10%，小麦粉 10%の割である。1日の投餌量は魚体重の 1/30 とし，供試魚の飼育はアツトキンス式醱化槽を使用した。水温は約 13°C であつた。

1957 年6月1日受理

実験結果は Table 1 に示す通りである。

Table 1. Effect of sulfa drugs upon the experimentally infected rainbow-trout frys with the fish pathogenic *Vibrio*

Fish nos.	Body weight (Average) g	Sulfa drug	Dose (g/body weight in kg)	Days of treatment	Nos. of dead fish	Remarks
200	1.90	Sulfadiazine	0.13	4	7(3.5%)	3 Je. '56. Fed the bacteria to the fishes. Medicated from 4 to 7 June Contiuned the observation during 21 days
〃	1.93	〃	0.20	〃	5(2.5%)	
〃	2.42	Thiasin	0.13	〃	1(0.5%)	
〃	2.06	〃	0.20	〃	〃	
〃	2.16	Control	——	—	22(11%)	
200	1.97	Sulfamerazine	0.13	4	1(0.5%)	From 29 to 30 Je. '56 fed the bactera to the fishes. Medicated from 1 to 4 July. Continued the observation during 21 days
〃	1.77	〃	0.20	〃	3(1.5%)	
〃	2.02	Sulfamine	0.13	〃	29(14.5%)	
〃	1.90	〃	0.20	〃	30(15%)	
〃	1.93	Control	——	—	28(14%)	

2. 抗生剤の効果——本実験も前者の実験と同様な方法で行つたものであるが，供試魚は高島養鱒場に於いて飼育中自然に感染した罹病魚を含む魚群を用いた。但し罹病魚の混在が少なかつたようで毎日少数の斃死魚が観察されるような魚群であつた。この魚群を無差為に一定数の実験魚群と対照魚群とに分け実験魚群には抗生剤を添加した餌を、対照魚群には無添加の餌を与えて飼育し，両者の斃死魚数を観察した。供試薬剤は Bacitracin-Penick "水素商事", Aurofac—2A "Lederle", TM—5 "田辺" の3種であつて，用量は Bacitracin-Penik の場合は 1/500，TM—5 と Aurofac—2A の場合に 1/300 の割に添加した(いずれも飼料との重量比)。飼料の組成及び投餌量は，前者の場合はサナギ粉末 50%、米糠 25%、小麦粉 25% で1日の投餌量が魚体重の 1/25，後者の場合はサナギ 50%，コマセ 20%，米糠 20%，小麦粉 10% の割で，1日の投餌量が魚体重の 1/30 とした。試験池は面積 20 坪のコンクリート池を使用した。

Table 2. Effect of antibiotics upon the rainbow-trouts suffering from the vibrio-disease

Group	Nos. of fish and total weight	Antibiotcs	Dose*	Period of experiment	Water temp. °C	Mortality
Experimanatal group	5000fishes 20kg	Bacitracin-Penick	1/500	18(16/Ⅺ～3/Ⅻ) 1955	14.8	162(3.2%)
Control	〃	——	——	〃	〃	190(3.8%)
Experimental group 1	400fishes 22.5kg	TM—5	1/300	23(8/Ⅺ～30/Ⅺ) 1955	13.0	15(3.8%)
Experimental group 2	〃	Aurofac—2A	〃	〃	〃	20(5.0%)
Control	〃	——	——	〃	〃	31(7.8%)

* Weight ratio of the drug to the diet

実験結果は Table 2 に示す通りであつて，Bacitracin Penick を与えた魚群と対照魚群との斃死率には大差がなく，又斃死状況も Fig 1 に示す如くほとんど同様であつた。次に TM—5 と Aurofac—2A と対照魚群の3者の中では TM—5 投与群が最も斃死率の低下を示した。

3. 論　　議——サルファ剤乃至抗生剤応用による魚類の各種細菌性疾病特に癤瘡病を対象としての治療防除に関する研究は少なからず報告されて居る。例えば GUTSELL (1945) が始めて癤瘡病の治療にサルファ剤の応用を試み其の効果的な事を報告して以来，GUTSELL and SNIESZKO ('46, '47, '48), WOLF ('47), SNIESZKO et al ('48, '50) FLAKAS ('50), SNIESZKO and FRIDDLE ('51, '52) 等の詳細な研究がある。ニジマスのビブリオ菌病の場合、罹病魚は一般に食思不振を来さないので適当な抗菌剤を加えた餌を与えることにより，本病の治療或は予防を計ることは比較的容易のように思われる。

前述のサルファ剤の効果に関する実験成績を見ると，試験魚群の斃死数は sulfamine の場合を除きいずれも対照魚群のそれより明らかに少いから，これは薬剤の添加に基くと認められる。本実験に於て斃死魚は菌投与後4～5日目に現われ始め6～7日に最高を示し、其の後漸次減じ9～12日後は斃死を認めなかつた。

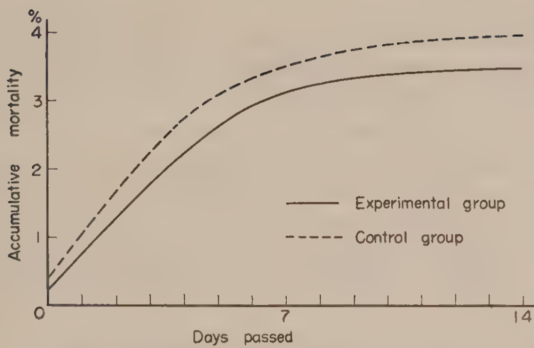


Fig. 1 Mortality curves showing the effect of Bacitracin–Penick on rainbow-trout suffering from the vibrio-disease.

つた。

sulfamine 投与魚群もほゞ対照魚群と同様であつた。thiasin と sulfamerazine とでは本実験では効果に差は認められなかつたが sulfadiazine はこれ等より劣る効果を示した。又用量が魚体重 1kg 当り1日 0.13g を与えた場合と 0.20g を与えた場合とで，thiasin の場合は斃死数に差がなく，sulfamerazine では後者の場合が却つて，多かつた。但しこの場合，薬剤の影響という事は考えられない sulfadiazine の場合は 0.13g 投与群が 0.20g 投与群より，僅かではあるが斃死魚数が多く，且つその現われ方が前者では実験開始後5～6日迄に7尾，後者では6～8日迄に5尾斃死したのであるから後者の用量がより効果的であつたと考えられる。

この実験に於ける用量は人体に与える場合と比較すればやゝ多いものであるが，投与日数が短かかつたから魚体に対しては何等の影響も観察されず，実験終了後，魚体重を測定した結果は各群ほとんど同様の成長を示した。癤瘡病の治療に関する研究報告によると sulfa 剤の中 sulfamerazine が優れた効果を示すことが報告されて居るが，本病に対しても優れた効果を示した。本剤は高等動物に於ては胃腸からの吸収がよく尿に排泄が遅いので同一血中濃度に達するに sulfadiazine の半量で足りるとされて居るものである。Gutsell and Snieszko ('48)，等は sulfamerazine による癤瘡病の治療には魚体重 100 ポンド当り1日 6g の用量が適当であつて投薬日数は 20 日間位とすべき事を報告して居る。然し其の後 Snieszko and Friddle ('50) の両氏はカワマスに同薬剤を与え，魚体内の濃度を測定し，治療に効果的な血中濃度を得るためには1日 10～15g/100 ポンド(魚体重) を投与する必要があろうと述べている。Flakas('50) は癤瘡病の治療処置に当り，其の効果が確実でなかつたり，又其の処置が長かつたりすれば，危険な保菌魚或は sulfa 剤耐性菌の発生の虞れがあることを指摘し，sulfamerazine に sulfaguanidine を併用するときは効果が確実になること，又用法は始めに高用量を用い，急速に血中濃度を高め次いで，それを維持するに足る低用量を用いるべき事を提唱して居る。そして例えば親魚を対象としての実験例で，最初の3日間は1日当り sulfamerazine 12g+sulfaguanidine 6g，4 日目から7日までは s.m. 6g+s.g. 4g（いづれも魚体重 100 ポンド当り）即ち1週間の投薬で確実な効果があつたという。

本病に対しても同様な考慮を払うことは重要なことであり，これと同時に疾病発生の初期に適当な薬剤を投与すれば其の被害を防除し得るであろう。

次に抗生剤の効果に関する実験結果を考察しよう。

今各試験魚群と対照魚群との斃死率の差を4分割表を作り χ^2 検定を試みると χ^2 の値が Bacitracin–Penick 投与魚群と対照魚群との場合は 1.08，TM—5……4.90 Aurofac—2A…… は 1.99 となる，この場合各 χ^2 の値は F の値に等しく，F 表より $F^1_\infty(0.05)=3.84$ であるから Bacitracin–Penick 又は Aurofac –2A 投与群と対照群との斃死率の差は有意でないが TM－5 の場合は5％以下の危険率で有意である。即ち TM—5 の投与は効果的であつたと認められる。然し Bacitracin–Penick 或は Aurofac—2A 等が無効というのではなく，特に Baeitracin–Penick の投与実験例の場合は用量が少いのであるから，治療を目的とした場合に

は更に用量の増加が必要なのであろう。

これ等の実験の場合は投薬日数が可成り長かつたのであるがいずれの薬剤の場合も魚体に対し何等の有害作用は観察されなかつた。TM—5 の場合は 1/300 の添加で投薬開始後1週間目には明らかに其の効果を観察されるから，薬効が現われてから更に数日間投与すれば可成りの効果を期待し得ると思われる。本剤は約 1.1％の割に塩酸テラマイシンを含有する製剤であるから本剤を飼料の総成中に 1/300 含ませ餌を魚体重の 1/30 投餌した場合は魚体重 1kg 当り約 1.1mg の塩酸テラマイシンを与えたことになる。今仮りに与えられた量の 30％が吸収されると考えると魚体内の濃度は約 0.4mg/kg と計算される。塩酸テラマイシンが試験管内で本菌の発育を完全に阻止する濃度は 0.5γ/cc であるから上記の添加量は治療的にはやゝ少いとも考えられる。然し主著者はこの実験とは別々この用量で著明な効果のあつた事を実験して居る。

4. 結　　論 —ニジマスのビブリオ菌病に対するサルフア剤並に抗生剤の投与効果に就いて調べて次の結果を得た。

（1） 病菌を経口投与したニジマス稚魚に sulfamine, sulfadiazine, thiasin 及び sulfamerazine の各々を魚体重 1kg 当り1日 0.13g 又は 0.20 宛を4日間与え、以後投薬を中止して，21 日間観察したところ sulfamine を与えた魚群を除き他は対照魚群に比し著明な斃死率の低下が観察された．特に thiasin と sulfamerazine はほぼ同程度の優れた効果を示した。

（2） 自然に感染した病魚を含む魚群に Bacitracin-Penick を 1/500（餌の量に対し）添加した餌で18日間飼育した結果は供試魚数 5000 尾中斃死魚数 162 尾，対照魚群では 190 尾であつた。又 TM−5 又はを Aurofac -2A を 1/300 添加した餌を 23 日間与えた結果は供試魚数夫々 400 尾中，前者 15 尾、後者 20 尾，この場合対照魚群では 31 尾の斃死であつた。これ等薬剤の投与は魚体に対し何等の有害作用を示さなかつた。

参　考　文　献

1. Flakas, K.G. 1950. Sulfonamide therapy of furunculosis in brown trout. Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 78, pp. 117—127.
2. Gutsell, J.S. 1948, The value of certain drugs, especially sulfadrugs, in the treatment of furunculosis in brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Ibid. Vol. 75 (1945), pp. 186—189.
3. ————. 1947. Furunculosis and its treatment. Prog. Fish—Cult. Vol. 9, pp. 13—20.
4. ————. and S.F. Snieszko. 1949. Dosage of sulfamerazine in the treatment of furunculosis in brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Ibid. Vol. 76 (1946), pp. 82—96.
5. ————. 1949. Response of brook, rainbow, and brown trout to various dosage of sulfamerazine. Ibid. Vol. 77 (1947), pp. 93—101.
6. ————. 1948. Furunculosis in fish : its diagnosis and treatment. Vet. Med. Vol. 43, pp. 484—486.
7. Hoshina, T. 1956. An epidmic disease affecting rainbow-trout in Japan. Tokyo Univ. Fish. Vol. 42, pp. 15—16.
8. ————. 1957. Further observations on the causative bacteria of the epidemic disease like furunculosis of rainbow-trout. Ibid. Vol. 43. pp. 59—66.
9. Schäperclaus, W. 1956. Bekämpfung der infektiösen Bauchwassersucht des Karpfens durch Antibiotika. Zeitschr. f. Fish. Bd. 5 N.F., S. 3—59.
10. Snieszko, S.F. et al. 1950. Various sulfonamide treatments for furunculosis in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 78 (1948), pp. 181—188.
11. ————. and S.B. Friddle. 1949. Prophylaxis of furunculosis in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by oral immunization and sulfamerazine. Prog. Fish-Cult. Vol. 11, pp 161—168.
12. ————. 1951. Tissue levels of various sulfonamides in trout. Trans. Am. Fish. Soc. Vol. 80, pp. 240—250.
13. Wolf, L.E. 1947. Sulfamerazine in the treatment of trout for furunculosis and ulcer disease. Prog. Fish-Cult. Vol. 9, pp. 115—124.

イワシ刺網の長さの方向における罹網分布に及ぼす縫目の影響

野村正恒・三次信輔・吉牟田長生・中野麟一
（東海区水産研究所）（鳥取県水産試験場）

On the horizontal Distribution of Catch influenced by the Seam of Net in Sardine Drift Nets

Masatsune NOMURA, Shinsuke MITSUGI, Chosei YOSHIMUDA and Rinichi NAKANO

Research has been conducted in regard to the horizontal distribution of catch which is likely influenced by the seam joining two unit of net adjacent to each other. The data derived from drift nets operated for sardine, *Sardinia melanostica*, in the Japan Sea. The examined results through the method of analysis shown as an example in Table 1 are mentioned in the following.

The spreading motion of distribution of catch over the net would be disturbed in some degree at places of the seam if fishing is operated at day time, but not at night (Table 3). This tendency is further accentuated if two sides of net boarded by the seam are different in colour or in luminosity (Table 5).

刺網に罹る大羽イワシの分布状態が網地の反と反とが縫合された境（反境）でどの様な影響をうけるか，更に縫合された網地が色合なり明暗を異にするばあいにはどのように影響されるかなどについて知るため，反毎の網地を水平に区分し，区分毎に罹つた個体を数え，その水平分布より検討を行つた。

取扱つた資料は山口県日本海側沖合では昭和30年12月23日より31年3月23日に至る間27操業（昼間操業），昭和31年12月28日より32年3月7日に至る間18操業（昼間操業），鳥取県沖合で昭和31年4月8日より5月18日に至る間13操業（夜間操業）についてのもので，1回の操業には約30〜40反の網地* を使用する。水平罹網分布は各反の長さの1/5区劃に於けるイワシの罹りを目測で計数した〆数を以てした。尚，資料の大半は鳥取水試の鳥取丸操業のものより蒐集した。

操業の1例を Table 1 に示す。この例と同様，いづれのばあいでも，1/5反毎の罹網〆数は波状に変化している。そこで1つの山に当る区劃を基点0として，左右に 1, 2, 3, … と区劃を並べ，基点から離れて1区劃先に移るときに罹りが減るばあいを "−"，増すばあいを "+"，同じばあいを "・" で表わすことにして，相隣る区劃の間に縫目（反境）があるばあいと無いばあいとを別々に集計し，Table 1 の例についての計算例を Table 2 に，全体の集計を Table 3 に示す。これによると昼網では縫目を越えて魚が拡がることが幾分阻まれるようだが，夜網では縫目としての影響はあまり感ぜられない。おそらくは縫目には縫合せの糸もからみ，たる網を通してたるにつながるため網目も狭まり，その上たるの動揺に伴つてゆれるといつたことのために縫目は殊に魚に目立つためだろう。このことは波浪が強いほど縫目附近に罹りがないことが屢々おこることでも裏づけられる（Table 4, Fig. 1）。なお、夜網が行われた時期に偶々海が平穏であつたということも縫目の影響があまり感ぜられない主因であつたとも考えられようが，この点は将来に残される。

縫目の両側の網地が色合なり明るさ** なりが違うばあいについて上と同じ方法を用いれば Table 5 に示すように縫目の影響は幾分強められることが判る。

縫目が Cutch 色と Blue，または暗いと明るいとの境であると，魚群の中心が Cutch または暗い側にあるものと，Blue または明るい側にあるものでは幾分前者の場合に魚群の偏向がつよい傾向のようである。(Table 6)。

1957年6月21日受理 東海区水産研究所業績B第264号

* 網糸はクレモナ 20′ˢ 4本，目合は8.2〜8.9節，1反の網地は巾700目，長さ33間（出来上り20間）

** こゝで云う色合は Blue と Cutch 色の二色，又明るさの相違とは同色で明度のみが異るものを云う。

Table 1. An example of horizontal distribution of catch
(Date : 14th. January, 1956 Name of boat : Tottorimaru)

① 0, .5, .5, .5, 0 1.5	② .5, 1.5, 2, 2, 1 7.0	③ .5, 2, 2, 2, 1.5 8.0	④ 1.5, 2, 2, 2, 1 8.5	⑤ .5, 2, 2, 1, .5 6.0
⑥ 0, .5, 1, .5, .5 2.5	⑦ .5, .5, 1, 2, 1 5.0	⑧ 1, 2, 2, 2, 1 8.0	⑨ .5, .5, .5, .5, .5 2.5	⑩ .5, .5, .5, 1, 1 3.5
⑪ 1.5, 3, 4, **5**, 2 15.5	⑫ 2, 3, 4, 3, 2 14	⑬ 3, 5, **6**, 6, 4 24	⑭ 3, 5, 6, 6, 3 23	⑮ 2, 0, 1, 1, 1 5
⑯ .5, 1, 1, 3, 2 7.5	⑰ 2, 3, **4**, 3, 2 14	⑱ 2, 3, 3, 3, 2 13	⑲ 2, 3, 5, 5, 4 19	⑳ 3, 4, 6, **7**, 4 24
㉑ 2, 4, 4, 4, 2 16	㉒ 2, 4, 3, 3, 2 14	㉓ 2, 4, **6**, 6, 3 21	㉔ 3, 5, 5, 5, 2 20	㉕ 5, 6, 8, 8, 6 33
㉖ 6, 8, **8**, 7, 5 34	㉗ 5, 8, 8, 4, 4 29	㉘ 1, 2, 2, 2, 1 8	㉙ 1, 2, 2, 3, 2 10	㉚ 2, 2, 3, 4, 2 13
㉛ 2, 3, **4**, 4, 2 15	㉜ 1, 1, .5, 0, 0 2.5			

The Arabic numerals show the amount of catch in KAN (1 KAN eguals 3.75 Kilograms) on each one-fifth of unit of net. The heavy numeral represent the mode of unit distribution of catch.

Table 2. An example of analysis on the data of horizontal distribution of catch (Tab. 1)

	Ⅴ	Ⅳ	Ⅲ	Ⅱ	Ⅰ	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
	1	1	1.5	3	4	5	2 *	2	3	4	3
	4	3	2 *	3	5	6	6	4 *	3	5	6
	1	3	2 *	2	3	4	3	2 *	2	3	3
	3	4 *	3	4	6	7	4 *	2	4	4	4
	3	3	2 *	2	4	6	6	3 *	3	5	5
	8	8	6	6	8	8	7	5 *	5	8	8
	3	4	2 *	2	3	4	4	2 *	1	1	.5
	·	−	−	−	−	·	− *	·	+	+	−
	+	+	− *	−	−	·	·	− *	−	+	+
	−	+	· *	−	−	·	−	− *	·	+	·
	−	+ *	−	−	−	·	− *	−	+	·	·
	·	+	· *	−	−	·	·	− *	·	+	·
	·	+	· *	−	·	·	−	− *	·	+	·
	−	+	· *	−	−	·	·	− *	−	·	−
without seam	1	5	0	0	0	+	0	0	2	5	1
	3	0	0	0	1	·	3	0	0	2	4
	3	1	2	7	6	−	4	5	0	0	2
with seam	0	1	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	0	0	4	0	0	·	0	1	3	0	0
	0	0	1	0	0	−	0	1	2	0	0

*…the position of the seam

Table 3. The relative values of horizontal distribution of catch compared between net with or without seam

ear	Fishing district	Kind of ship	Number of operation	Fishing time	Classification		0—I	I—II	II—III	III—IV	IV—V
							+ · −	+ · −	+ · −	+ · −	+ · −
956	Yamaguchi Pref.	Commercial fishing boat	5	Day	Without seam	Frequency Value	0 16 25 −25/41 =−.69	8 17 20 −.26	9 15 16 −.37	11 12 16 −.13	13 12 16 −.07
					With seam	〃	0 0 9 −1.00	0 4 7 −.63	2 1 7 −.50	6 2 3 +.27	3 1 4 −.12
〃	〃	Fishery research boat "Tottori maru"	19	〃	〃	〃	0 56 184 −.51	10 19 158 −.79	63 21 74 −.07	126 32 32 +.49	92 82 66 +.12
					〃	〃	0 2 9 −.82	3 9 56 −.79	11 23 57 −.51	25 13 23 +.33	5 1 5 0
957	〃	"Tottori maru"	18	〃	〃	〃	9 32 40 −.26	3 14 56 −.73	7 3 10 −.15		
					〃	〃	0 0 1 −1.00	1 1 7 −.67	13 14 34 −.42		
956	Tottori Pref.	〃	15	Night	〃	〃	0 8 104 −.93	15 11 61 −.50	36 14 40 −.45	51 12 21 +.36	52 19 36 +.15
					〃	〃	0 0 6 −1.00	7 3 21 −.45	8 7 20 −.34	12 9 10 +.65	1 2 7 −.60

Table 4. Numbers of the case when fish are caught around the seam, and wave intensity

Date	Numbers of the case: When fish were not caught around the seam		When fish were caught around the seam		Wind force, direction	Sea (wind wave)	Note.
	Number	Percentage	Number	Percentage			
1955. 12. 25	6	23	20	77	W 2	1	Fishing ground : Yamaguchi Prefecture
1956. 1. 4	21	50	21	50	NW 3	2	
1. 13	74	100	0	0	W 2	3	
1. 14	64	100	0	0	E 1	3	Fishing time : Day
1. 17	7	15	41	85	E 2	1	
2. 8	25	36	45	64	W 2	2	
2. 9	34	70	22	30	3	3	
2. 10	36	45	44	55	3	3	
1955. 2. 9	15	36	27	64	S 1	1	Same as above
2. 10	32	61	20	39	E 1	0	
2. 12	19	38	31	62		1	
2. 13	41	82	9	18	W 3	2	
〃	63	79	17	21	〃	2	
2. 14	43	75	15	25	SW 4	3	
〃	12	33	24	67	〃	3	
1956. 4. 22	25	36	44	64		0	Tottori Prefecture
〃	12	36	21	64		0	
4. 26	57	77	17	23		2〜3	Night
〃	76	95	4	5		2〜3	

Table 5. The test for influence of seam on distribution of catches when two adjacent of nets different in colour or luminosity were used

Classification	Value	0—Ⅰ			Ⅰ—Ⅱ			Ⅱ—Ⅲ		
		+	·	−	+	·	−	+	·	−
without seam	1956	0	34	75	4	10	65	18	6	18
	1957	6	24	48	9	24	44	6	5	15
	total	6	58	123	13	34	109	24	11	33
	value	(6−123)/187=−.62			(13−109)/156=−.61			(24−33)/68=−.13		
with seam	1956	0	0	1	1	4	13	6	12	13
	1957	0	0	0	0	0	0	6	3	9
	total	0	0	1	1	4	13	12	15	22
	value				(1−13)/18=−.67			(12−22)/47=−.21		
with the seam, two adjacent of nets are different in colour or luminosity	1956	0	0	0	0	0	5	6	5	13
	1957	0	2	7	1	3	5	7	5	20
	total	0	2	7	1	3	10	13	10	33
	value	(0−7)/9=−.78			(0−10)/14=−.71			(13−33)/56=−.36		

Table 6. The test for influence of seam on distribution of catch in regared to the center of fish school

	Classification	Ⅲ	Ⅱ	Ⅰ	0	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
A	When fish school centered on the side of a cutched or dark net	**2** 1 1 **0** 0 0 **2** 5 4	**0** 0 0 **0** 1 1 **1** 0 2	0 0 0 0 1 2	+ · −	0 0 0 0 1 1	**0** **0** **2**	**0 1** 0 0 **1 0** 0 0 **3 2** 2 2
B	When fish school centered on the side of a blue or light net	**0 2** 0 **0 4** 1 **2 3** 1	0 1 0		+ · −	0 0 0 1 1 1	**0** **0** **2**	**1** 5 0 **0** 1 1 **1** 2 2

Result		0—Ⅰ	Ⅰ—Ⅱ	Ⅱ—Ⅲ
	A	(0−5)/5=−1.00	(0−5)/7=−.72	(5−20)/26=−.58
	B	(0−2)/3=−.67	(0−4)/6=−.67	(8−11)/26=−.11

Gothic figure : 1956, Roman figure : 1957

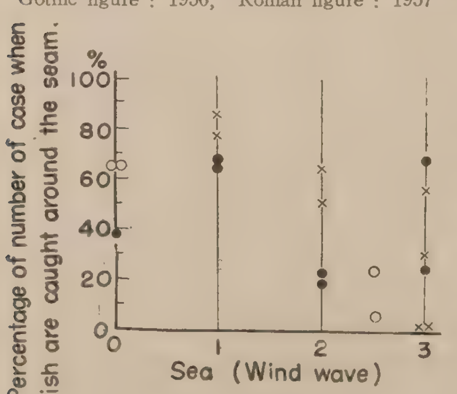


Fig. 1 The relation between wave intensity and percentage of frequency of catch around the seam. Symbols… × : 1955.12.24〜1956.2.10, ● : 1955.2.9〜1955.2.14, ○ : 1956.4.22〜1956.4.26

終りに臨み御指導を賜つた田内森三郎博士，御忠言を頂いた東海区水産研究所高山重嶺部長，宮本秀明博士，試験操業に御協力頂いた鳥取県水産試験場，同試験船鳥取丸乗組員諸氏、並びに試験材料の一部に御配慮を頂いた倉敷レイヨン株式会社，富山漁網株式会社に対し深く感謝の誠を棒げる。尚本研究の一部経費は文部省試験研究費によつたことを附記する。

海藻類の核酸に関する研究 特にアサクサノリの癌腫病に於ける DNA 含量の特異性について*

片山輝久・藤山虎也
（広島大学水畜産学部）

Studies on the Nucleic Acid of Algae With Special Reference to the Desoxyribonuleic Acid Contents of the Crown-gall Tissues developed on *Porphyra tenera* KJELLM.

Teruhisa KATAYAMA and Toraya FUJIYAMA

1) The nucleic acids of the algae were found to be composed of DNA and RNA and each component was separated by the modification of OGUR & ROSEN's method (Table 1). DNA and RNA were then determined by the ultraviolet absorption method. The results were calculated into mg% in dry matter from the standard curves of authentic specimens of DNA and RNA prepared from calf thymus and yeast respectively (Figs. 2—6).

2) In the laver field near Fukuyama Port, the tumourous fronds appear generally at St. G, E and C, where the water is considerably polluted by the industrial waste from Fukuyama city, at first in December, then the desease become severe and prevail quickly before January. On the other hand, at St. H where the water is rather clear, the desease breakes out later in February or March.

3) DNA contents of the larver fronds are found maximum in the early stage of tumour, and the mode of the monthly changes of the contents at St. G, E and C, seems to have some correspondence to the spreading of the tumour, while RNA contents have no relation with the desease (Figs. 4—6).

著者等は 1952 年以来[1)2)3)]，工場廃水に起因すると思はれるアサクサノリ *Porphyra tenera* KJELLM. の癌腫病（俗称，チヂミ，パーマネント，フカ等）につき，現場に於ける発病状況，移殖試験による生物学的な工場廃水による被害の判定法，発病葉体の異常増殖組織の細胞化学的研究，人工発癌試験等を行い，病徴の進行状況が工場廃水及び葉体の核酸含量の変化に関係のある事を認め，その生物学的な部分の詳細と，DNA 含量に関する 1954 年迄に行つた予備試験の概要を別報[4)5)]に報告した。しかし DNA 含量は吸光係数による比較値であり，又諸測定法を[7)-10)]藻類に応用する場合，RNA の測定が不能であつた為，本報では抽出法の改良による各種藻類の両核酸含量の測定結果[6)]，就中 1956 年度福山港外引野海苔場の各採集点 (Fig. 1) に於ける DNA 量と，1957 年度同一採集点に於ける DNA，RNA 量との時期別変化と，発癌葉体の病徴の拡大状況との関連に就て報告する。

I 材料及び方法

材料は，工場廃水（主として染料，化学薬品，ゴム製品等の製造工場）と市内からの排水により極度に汚染されている福山港に通ずる水路の出口に，航路沿いに存在する引野海苔場に於て，Fig. 1. に示す各点に於て採集した。即ち胞子場内 C—H の各点及び之等からの間引きによる移殖場内の A，B点，及び B 点

1957 年 6 月 21 日受理

* 本研究の一部は，文部省科研各個研究，昭和 30 年度（課題番号64050）により行つたものである。

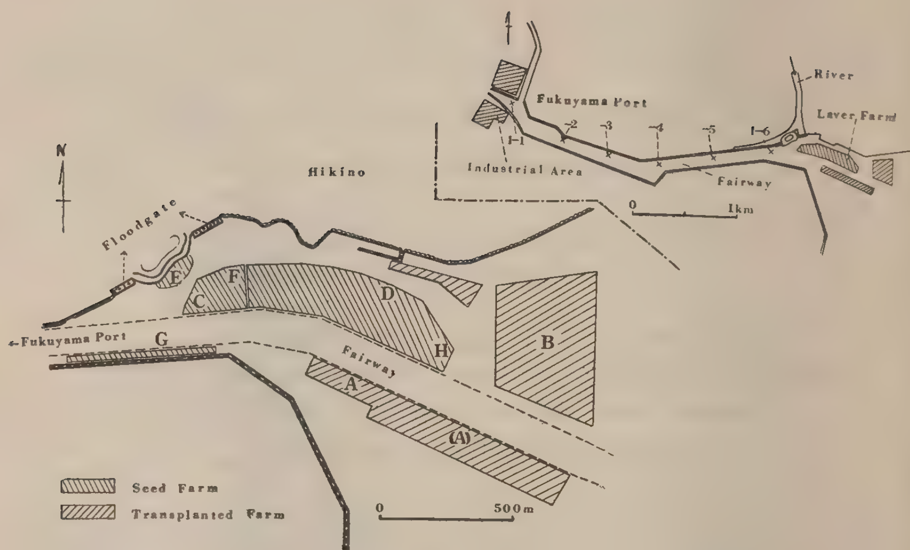


Fig. 1. Hikino laver farm located in the entry of the Fukuyama Port.
A～G : Station I-1～I-6 : Station A : 1956 (A) : 1957

Table 1. Separation of DNA and RNA by the modification of the OGUR & ROSEN's method.

Sample
- 70% alc. 10 cc. homogenized and centrifuged.
  - Sol.
  - ppt.
    - suspended in 5 cc. 70% alc. containing 0.1% perchloric acid and centrifuged.
      - Sol. (alcohol soluble compounds)
      - ppt.
        - resuspended in 5 cc. of 3 : 1 alc. and ethylether, a small piece of porous clay plate is added, the mixture is boiled gently for 3 min. on water-bath, repeated twice and centrifuged
          - Sol. (alcohol-ether soluble compounds)
          - ppt.
            - suspended in 5 cc. of cold 0.2 N perchloric acid and centrifuged (repeated twice)
              - Sol. (acid soluble compounds)
              - ppt.
                - suspended in 5 cc. of N perchloric acid and stored at 4°C for 7 hours. centrifuged (repeated twice)
                  - Sol. (RNA)
                  - ppt.
                    - suspended in 5 cc. of 0.5 N perchloric acid and heated in a water-bath for 20 min. at 70°C. (this process is repeated) centrifuged
                      - Sol. (DNA)
                      - ppt.

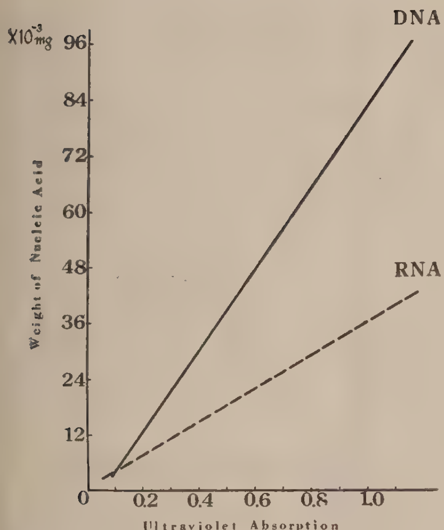


Fig. 2 Standard curves of authentic specimens of DNA and RNA prepared from calf thymus and yeast respectively.

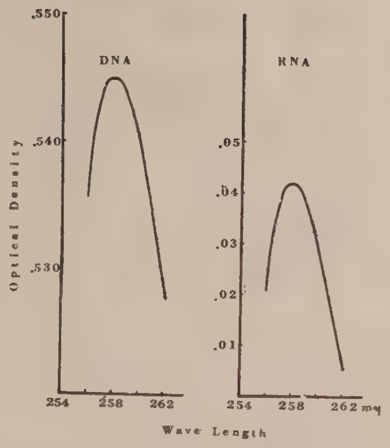


Fig. 3. Ultraviolet absorption curves of both DNA and RNA.

に於て試験用に特別に採苗したものを港内水路に約 400 m. 間隔に移殖した I-1〜I-6 の諸点について，12〜3 月に毎月 1〜2 回の採集を行つた。核酸の定量法は次の通りである。

1. 核酸の抽出方法　　核酸の抽出方法には SCHNEIDER[7]，SCHMIDT & THANNHAUSER[8]，OGUR & ROSEN[9)10] 等がある。前二者は何れも Pulfrich Stufenphotometer を用いて定量し，後者の抽出法を用いると Beckman の光電分光光度計を用いて測定し得る。一方植物体の核酸定量には後者が適当である為[2] OGUR & Rosen[9)10] 法により試料は 1956 年度 0.5 g，1957 年度 0.2 g を用いて抽出した。(Table 1.)

2. 標準曲線の作成　　ミノフアーゲン社製最純 DNA (胸腺)，RNA (酵母) の一定量をとり，前記抽出方法を用いて抽出し，Beckman の分光光度計を用い 2600Å に何れも最大吸収帯のある事を確めた。一方核酸成分であるプリン及びピリミジンは約 2600Å で紫外部吸収極大のある事が CASPERSSON[12] や KÖHLER[13] によつて明らかにされている。そこで各濃度の 2600Å に於ける吸光係数を求め，各測定点を結ぶと Bouguer-Beer の法則[11] に合致する事を確めた。その結果は Fig. 2. の如くである。

3. 定量法　　前記の方法により海藻試料から抽出した RNA，DNA を夫々全量を 20 cc. とし Beckman の分光光度計を用いて紫外部吸収スペクトルにより測定した一例を Fig. 3. に示す。即ち何れも 2580 Å に吸収極大のある事を確め，2580Å に於ける吸光係数を Fig. 2. の標準曲線を用い核酸の mg 数を求めた。

Table 2, 3 及び Figs. 4—6 には，更に乾燥量の mg% に換算した数値を示す。

II 実験結果と考察

1. DNA 含量　　Fig. 4, 5. に両年度の測定結果の内，E, C, H 三点に於ける DNA 量の時期別変化を示す。(Fig. 1)　胞子場で最も顕著に病葉体の現はれるのは，G 点に於ける航路に差し出されたひびであるが，57 年度は胞子付き甚しく不良で試料の採集不能であつた為，両年度の比較の為 E 点を選んだ。E 点の葉体も12月すでに病葉体と成つて居り，C, H 両点は 12 月は外観正常であるが，1 月に入ると C 点から H 点えと順次病徴の拡大が見られる。港内からの汚染水に最も強く影響を受ける E，G 両点の葉体の生育は伸長を停止し，細胞層 5〜6 層の革状の完全な縮み葉と成るが，港口を隔たるにつれ生育は正常と成り，増殖組織は点々と肉眼で認められるが，縮み葉迄には致らない。移殖場 A は，57年度，廃水の被害を避ける為沖合(A)に移動したが，B 点と共に，港口近辺が年々収穫量の減少するに反して収穫の主力を占め，病徴も軽微であ

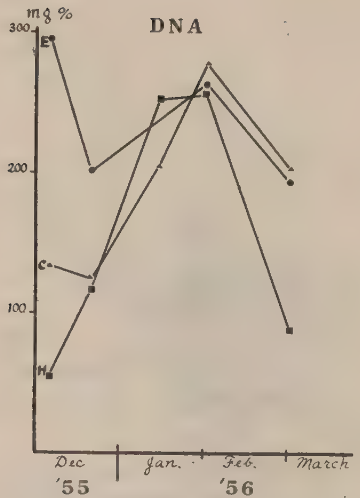


Fig. 4. Monthly changes of DNA contents of the tumouours laver fronds collected from the three stations, C, E and H shown in Fig. 1.

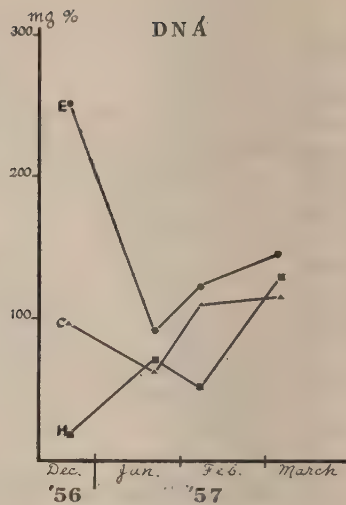


Fig. 5. The same in Fig. 4.

る。以上の病徴の拡大状況は 52 年度以来狂い無く港口部から始まる。DNA 量と発癌との関係は，別報[4)5)]に報じた様に異常増殖組織の起源と成る細胞内の DNA 量の過剰生産によるものであり，その時期は Fig. 4, 5. に於けるE点の 12 月の DNA 量に最も良く現はされている。即ち他地区の正常葉体（Table 2. 壬生川）の一例の夫に比べ著しく多く，RNA に比し安定していると云はれる DNA にこの様な差のある事及び同一地区内に於て変動の甚しい点異常であると云えるが，正常た地域に於ても月別に変化するものか否かは確かめていない。

港口から隔つたH点に於ては発病期である2月に向つて DNA 量は増加し，E点に近いC点は，量は少いが傾向としてはE点に近く，之等三点は 56 年度2月初め，及び 57 年度1月末にほゞ同量を示す特期がある。両年度の絶対量の比較に於ては，56 年度は 1～2 月に多く3月に減少，57 年は1月に少く3月に向つて増加しているが，三点間の相対的な増減の関係はほゞ同様である。両年度の絶対量の増減は，降雨による葉体の色調と関係し，当地区に於ては例年1月以降葉体の褪色の甚しいのが通常であるが 56 年度は2月適当な雨量の為色調は恢復し 30 年来の多収穫を収め 57 年度は終期に降雨多く色調も落ちず収量も尻上りに上昇したこの色素と DNA 量との関係は，DNA が主に核に局在すると云ふ点から，本研究を後述する様に

Table 2. DNA contents of transplanted laver fronds from the St. B to six differeent points along the fairway leading into the Fukuyama Port, where the water has been variously polluted from the industrial waste. Transplanted on the 12th of January, 1956.

Station	DNA contents in mg%		
	Jan. 14th.	Feb. 1st.	March 1st.
I-1	302.4	Dead	Dead
I-2	198.0	Dead	Dead
I-3	178.8	99.6	Dead
I-4	97.2	the upper part 75.6 the lower part 84.0	Dead
I-5		the upper part 145.6 the lower part 104.4	152.4
I-6		144.0	138.0
Normal fronds of Nyugawa, Ehime Pref.	44.2		

単個細胞内の DNA 量測定に迄推進した後着手する予定である。唯 問題と成る点は，細胞質での蛋白質合成には RNA が与つていることが知られて居るが，本研究に於ては DNA と強い関連の見られる事で，藻類を対象にしたこの種の研究が従来皆無である為，将来の研究に待ち度い。

次に 56 年度港内水路 I-1～I-6 (Fig. 1) に移殖したものゝ時期別 DNA 量の変化を Table 2. に示す。工場地帯からの廃水の甚しい I-1 では移殖後 2 日で葉体は赤変し， I-2 では一汐後に赤変したが同時期の愛媛県壬生川産の正常葉体に比べ異常に多い量を示し港口の採集点に向ふ程少い量を示す。移殖後20日では I-3 迄，50 日後では I-4 迄のものは赤変し，斃死葉体の出ない I-5 及び I-6 両点のものに発癌葉体が見られた I-6 は，建込後 30 日の小葉体に発病し其後も最も病徴の甚しい E，G 点に近接している。(Fig. 1.) 以上の結果から，工場廃液を濃厚に含む水域は致死的に仂き，港口附近の二個所の水門 (Fig. 1.) から注入する河川水の稀釈を受ける地域に近づくと初めて病葉体の出現する事が示され，人工発癌実験[4)5)] に於て nitromin の濃度 0.1～0.01 p.p.m. で発癌細胞の出現する結果と一致する。

2. RNA 含量 57 年度に，DNA 量測定に用いた各同一試料による RNA 量の時期別変化を Fig. 6. に示す。病徴と DNA 量との間に見られる様な関係は RNA 量では見られない。RNA/DNA の値も動物組織の例[14)] と同じく不定で何等の傾向も見出されない。又 DNA 量に比べて採集場所別，時期別の差は余り見られない。本実験から DNA 量の絶対値の大きい試料では RNA 量が少ないと云つた程度の傾向は見られるが，正常葉体の時期別の両核酸量の変化についての測定結果を欠く為，この点の検討は今後に期し度い。

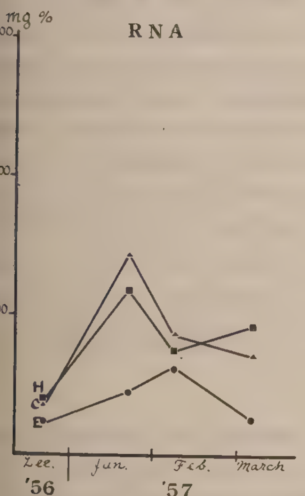


Fig. 6. Monthly change of RNA contents.

3. 各種海藻の両種核酸量 1957年度，上記の試料採集期間中に，緑藻 4 種，褐藻 2 種，紅藻 4 種を，海苔場内及び近接海域から採集，同一操作により定量を行つた結果を Table 3. に示す。

本実験は，従来未知であつた藻類の核酸定量を，抽出法の検討を兼ねて行つたもので，同一種についての時期別変化は求めていない。従つて前記海苔場の特異性との関係付けを目的として行つたものではないが，一応の比較として，アサクサノリはH点 (Fig. 1.) の 1 月のものを加えた。之等の定量値からは，予期していた緑，褐，紅藻の三大別による両種核酸量には特定の傾向は見られない。又各種別の一般成分分析値中蛋白質の量と比較してみても，その量の多少と両種核酸の量とは必ずしも比例しない。*Ulva pertusa* の例から見て，恐らく DNA 量は各種共時期別に相当の変動があるものと予想されるので，更に各種についての年間，特に生殖細胞形成時を詳細に測定の予定である。

Ⅲ 論 議

細胞学的な研究[2)4)5)] 結果から細胞核の染色性の増加と DNA 量との関係を知る必要を生じ，藻類の核酸抽出法を検討した結果 OGUR & ROSEN[9)10)] 法を適当と認め，同法中 silica の使用を中止する事により始めて RNA の測定も可能と成つた。本報に示す両種核酸量と葉体の色調との関係，及び DNA 量の不安定な点が従来知られている動物組織の DNA 量の安定性[14)] とは可成り違つた結果と成つている点等は，藻類に関するこの種の研究が全く無い為その比較は不能であり，多数種類の年間測定の結果を得て改めて論ずる事にし度い。扨て核の染色性と DNA 量の増加期と一致する点，核内の chromatin 数の増加，多核細胞の形成等 DNA 量の異常生産が増殖組織形成の原因と成る事を[2)4)5)]明らかにしたが，廃水による所謂刺戟説と，内因的な細胞説との関連は現段階に於ては癌研究全般の動向からも明らかではない。一方陸上植物に見られる細菌寄生[15)]や，其他一般的な植物癌の原因としての virus 寄生[16)] 等の寄生説も考えられる。plant virus[16)17)] は RNA 起源である事が知られているが藻類に関しては未開拓の分野である為，本研究に於ける発癌葉体の DNA 量の増加と virus との関係は今後の研究に待ち度い。一応本報に於ける病葉体の RNA 含量には特異性の見られない点を附記するに止める。

Table 3. DNA and RNA contents (mg% in dry matter) of the algae.

Sample		DNA mg%	RNA mg%	Date of Sampling
Chlorophyceae	*Ulothrix* sp.	111.0	15.3	Jan./'57
	Monostroma nitidum Wittr.	292.0	142.0	Jan./'57
	Enteromorpha prolifera (Fl. Dan) J. Ag.	76.1		Jan./'57
	Ulva pertusa Kjellm.	31.1	44.1	Jan./'57
		89.4	43.7	March/'57
Phaeophyceae	*Sargassum Thunbergii* (Mert.) O. Kuntze.	96.0	50.8	Jan./'57
	Chorda Filum Lamx.	149.0	21.8	Jan./'57
Rhodophyceae	*Gracilaria confervoides* Grev.	195.0	115.	Dec./'56
	Gloiopeltis furcata Post. et Rupr.	84.4	76.9	March/'57
	Ceramium sp.	195.0	29.0	March/'57
	Polysiphonia sp.	224.0	29.0	March/'57
	Porphyra tenera Kjellm.	71.1	118.0	Jan./'57

次に本研究に於て定量した核酸量は，生材料 0.2〜0.5 gr. の葉体により行つたもので，細胞化学的研究と併行して細胞内の核酸量を測定する必要がある。この測定法について検討した結果，アサクサノリの場合は，その核が 1〜3 μ 程度の小型である為，小穴，直良[14]により改良された顕微分光測光法にかゝらぬ事が判明したので Ris & Mirsky[15] の Feulgen 反応の比色法によるか，細胞浮游液による化学的な方法によるかであるが，何れにしても，之等の方法に適した細胞浮游液を作るに必要な pectinase をアサクサノリ寄生の糸状菌等から抽出する事が先決問題で，酵母から作られた市販の pectinase[19] では使用に耐えない。この点に関しては糸状菌の純粋培養が敦賀（未発表）により成功されて居り可能性を加えたと云つてよい。

終りに御教示を頂いた東大，新崎盛敏博士，東海区水研，須藤俊造博士，東大，小穴純博士及び直良博人氏，御助力を頂いた木村三郎，長田義和，高井瑛之の三氏に厚く御礼申し上げる。

文　　献

1) 藤山虎也：アサクサノリの癌腫に関する研究—I，昭和 28 年11月，日本水産学会口頭発表
2) 片山輝久，藤山虎也：　〃　—II，昭和 30 年 4 月，　〃
3) 〃，〃：　〃　—III，昭和 31 年 4 月，　〃
4) 藤山虎也：アサクサノリ癌腫病の細胞化学的研究，水産学集成，829-840 (1957)，東京大学出版会
5) 藤山虎也：水産増殖，**4**，No.4，69–73 (1957).
6) 片山輝久，藤山虎也：アサクサノリの癌腫に関する研究—IV，昭和32年4月，日本水産学会口頭発表
7) Schneider, W. C.: *J. Biol. Chem.*, **161**, 293 (1945).
8) Schmidt, G. & Thannhauser, S.: *J. Biol. Chem.*, **161**. 83 (1945).
9) Ogur, M. & Rosen, G.: *Fed. Proc.*, **8**, 234 (1949).
10) 〃　〃: *Arch. Biochem.*, **25**, 262 (1950).
11) 柳沢文正：光電比色計の実際 **4**，(1955)，共立出版，東京
12) Caspersson, T.: *Scand. Arch. Physiol.*, **73**, 8 (1936),
13) Köhler, A.: *Z. Wiss. Mikroskop.*, **21**, 129, 175 (1904).
14) 江上不二夫，柴谷篤弘：核酸 (1953)，共立出版，東京.
15) Gauthert, R. J.: *Endeavour*, **9**, No.33 (1950).
16) Huxley, J.: *Biol. Rev.*, **32**, No.1, 1-37 (1957).
17) Chargaff, E. & Davidson, J. N.: *The Nucleic Acids*, **1**, 403-405 (1955), Academic Press Inc., Publishers, New York.
18) Ris, H. & Mirsky, A. E.: *J. Gen. Physiol.*, **33**, 125–146 (1950).
19) Chayen, J.: *Stain Tech.*, **29**, 37–39 (1954).

Studies on Putrefaction of Aquatic Products—XXIV. On Spoilage of Some Shell-fishes*

Wataru SIMIDU and Sigeyuki HIBIKI
(Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University, Nagahama, Maizuru.)

Introduction

Studies on the spoilage of various kinds of marine products, not only fishes but mollusks and crustaceans, have previously been published from our laboratory. It has already been indicated by many investigators that fresh extract of shell-fish generally contains so large an amount of glycogen as to cause its pH value to shift to the acidic side previous to the development of basic spoilage products. However, as to modes of the changes of extractive nitrogens[1)2)] and acids[2)3)] which develop during the storage of shell-fish, only a few reports are available even till now.

In order to elucidate the modes of the above mentioned phenomena the authors have dealt, in the present paper, with the change in some meat components during the spoilage of shell-fishes, especially in histidine and histamine, comparing the patterns of the spoilage of shell-fishes with those of the white muscle fish and the reddish muscle fish.

Experiments and Results

Materials and Methods : ——The materials used in this study are illustrated in Table 1. In every experiment the shell-fishes were preliminarily shucked, and the edible parts** of them were minced. As control specimens also the ordinary muscles of flat-fish and mackerel were used. The samples thus prepared were then stored at *ca.* 15°C., and every small portion of them was taken out at definite intervals to estimate pH value, volatile base (V.B.), trimethylamine oxide (T.M.A.O.), trimethylamine (T.M.A.), ammonia (NH_3), histidine, histamine, and glycogen. These values were estimated by the same methods as reported in the previous works. Proteins in extracts were remove by the addition of trichloroacetic acid.

Glycogen was measured by the PFLÜGER method.

Experiment I. The results of the experiments carried out on two kinds of shell-fishes and a flat-fish, a white muscle fish, are shown in Fig. 1. As the spoilage advanced

Received Dec, 21, 1956.

* Presented at the Annual Meeting of the Japanese Society of Scientific Fisheries, in Tokyo on April 3, 1955.

** The edible part means internal organ and muscle (mantle, adductor muscle and foot). There is no distinct difference between internal organ and muscle of the shell-fish in glycogen content. In oyster and short necked clam[2)], glycogen content is larger by about 20 % in the internal organ than in muscle. And glycogen content of the muscle is larger in the adductor muscle and foot than that in the mantle.

Table 1. The history of the materials used in the present experiments.

Exp. No.	Species	Locality of cach	Time spent after cach (hr.)	Weight (g.)	Date of cach	Moisture (%)
I	*Ostrea* (*Crassostrea*) *gigas* (Oyster) マ ガ キ	Wada 和 田	20	*15	Dec. 13, 1954	79.8
	Paphia (*Paratapes*) *undulata* (*Short necked clam*) ア サ リ	Miyazu 宮 津	24	*5	〃	78.0
	Tanakius Kitaharai (Flat-fish) ヤナギムシガレイ	Miyazu 宮 津	48	100	〃	81.4
II	*Paphia* (*Paratapes*) *undulata* (Short necked clam) ア サ リ	Miyazu 宮 津	20	*15.	Feb. 3, 1955	——
III	*Scomber japonicas* (Mackerel) マ サ バ	Maizuru 舞 鶴	20	950	Feb. 4, 1955	——

* Weight of shucked shell-fish meat.

pH value of shell-fish shifted to the acidic side. Trimethylamine oxide and glycogen decreased gradually, while trimethylamine and ammonia increased by degrees. During the progress of spoilage, histidine in the free state could scarcely be detected (less than 1.0 mg. % on the first day) and there was also very little production of histamine (less than 1.0 mg. %).

Experiment II. To make sure the influence of the large inclusion of carbohydrates on the spoilage of shell-fish, the behavior of short necked clam meat, of which glycogen content is singularly small, was comparatively examined using the samples with or without 5 % addition of glycogen or cane suger. The results obtained are shown in Fig. 2. Both volatile base and trimethylamine decreased by about 10 to 20 % in the samples loaded with carbohydrates. Histidine was scarcely present and the production of histamine was also very small.

Experiment III. In order to establish the peculiar feature assumed by the spoilage

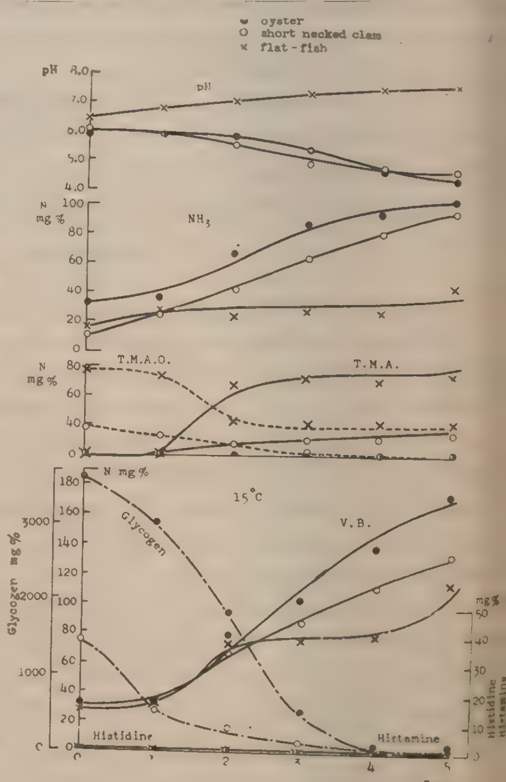


Fig. 1. The hcanges of pH value, ammonia, trimethylamine, trimethylamine oxide, volatile base, histidine, histamine, and glycogen in the shell-fish and glycogen in the shell fish and ffat fish during spoilage at 15°C.

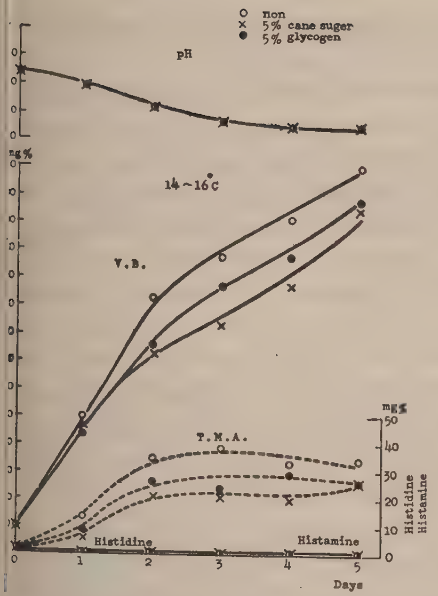


Fig. 2. The influence of a high content o carfbohydrates on the spoilage of shell-fish. The changes of pH value, volatile base, trimethylamine, histidine, and histamine in the progress of spoilage of shell-fish at 14°~16°C., to which glycogen or cane sugar either amounting to 5% was added.

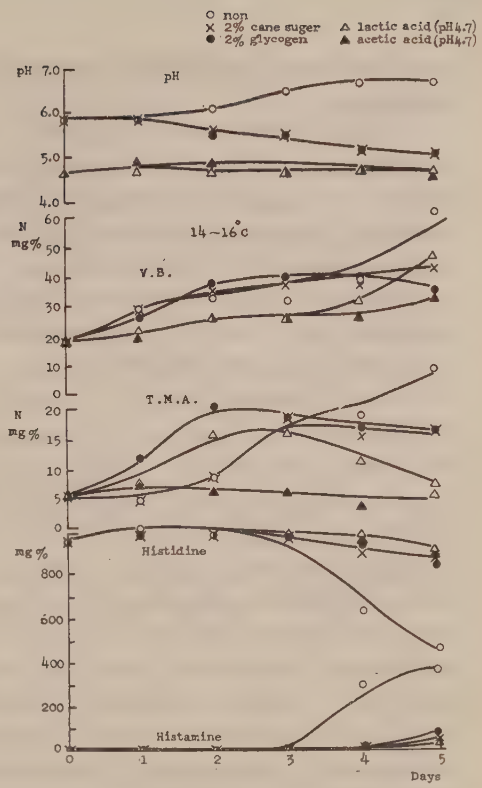


Fig. 3. The influence of carbohydrates or acids on the spoilage of mackerel, a reddish muscle fish.
The changes of pH value, volatile base, trimethylamine, histidine, and histamine, in a minced mackerel stored at 14°~16° C., to which carbohydrates or acids were added.

when it advances under the presence of carbohydrate or acid, a few series of experiments were carried out with minced mackerel to which either one of the following substances was admixed : 2 % cane sugar, 2 % glycogen, 1.36 % (v/w) lactic acid, or 0.67 % (v/w) acetic acid. The results obtained are shown in Fig. 3. As seen in this figure, pH value of the minced meat added with the carbohydrates became notably acidic. The production of volatile base-or trimethylamine-nitrogen was found to have no great difference between the samples and the control, whereas the changes of histidine and of histamine were considerably retarded. The two samples added with acids indicated rather small chemical changes caused by their spoilage.

Discussion

As shown by the experimental results, pH value of shell-fish changed gradually to the acid side with the advance of spoilage. Perhaps, this decrease of pH value may be attributed, if not entirely, to the acids formation from the cadbohydrates, glycogen for instance, contained in extract of shell-fish. KOBAYASHI[3], and later TAKAGI and SIMIDU[2] as well have found that a considerable amount of acid is produced during the storage of shell-fish.

On the other hand, nitrogenous volatile bases developed from the shell-fishes on a level with white muscle fish but in a larger quantity than from reddish muscle fish, while

the production of trimethylamine was much less as compared with the production o ammonia.

Dyer[4] reported the following values of trimethylamine oxide nitrogen content for som shell-fishes (in mg. %) : 0, clams and oysters ; 15～32, cookles ; 42～110, muscles o scallops ; 7～12, organs of scallops, while values of about 2 mg. % and 38 mg. % wer obtained in the present experiments for oyster and short-necked clam, respectively. Th differences between the values reported by Dyer and those of the present authors seem t be due to the climatic and seasonal variations. Among the species cited above, thos containing a large quantity of trimethylamine oxide are expected, of course, to produc not a small amount of trimethylamine.

Now, a significant quantity of monoamino acids has been detected in the extracts o shell-fish as it was the case with *Cephalopoda* and *Arthropoda*. And moreover the mono amino acids decreased more promptly than the diamino acids in the storage of thes aquatic products.[1)2)] It may therefore be assumed that the ammonia occurring in thes meats has been derived from such monoamino acids at least partially.

It was found that very little histidine was present in extracts of shell-fish (less tha 1.0 mg. %) and the histamine produced through spoilage of this material attained to onl a very small amount (less than 1.0 mg. %). This is quite similar to that met with i the changes of the histidine content and the histamine content during the spoilage of whit muscle fish[5)6)], squids[6)], octopuses[6)7)], shrimps[6)], and crubs[8)].

In the minced reddish muscle fish, which had been added with a large quantity o carbohydrate, pH value shifted to the acidic side causing delay of histamine formation. A to the detailed feature of histamine production in reddish muscle fish meat being spoile under the presence of carbohydrate, the authors will make some discussions in a forth coming paper.

After all, it may well be considered that the histamine-poisoning would hardly be th case in foodstuffs of shell-fish, because, as seen above, there is practically no histidine, and there forms a fairly large amount of nitrogenous volatile base which will surely serv as a warning-post of spoilage.

Summary

(1) The spoilage of shell-fish was examined, the features of the spoilage of white muscle fish and reddish muscle fish being referred to.

(2) In the begining of spoilage, pH value of shell-fishes shifts to the acid side, presumably due to their high content of glycogen.

(3) The volatile base nitrogen, of which the trimethylamine is small and the ammonia is large in amount, is produced in a considerable quantity as is the case with white muscle fish. Trimethylamine oxide content amounts to fairly large quantities ranging from ca. 2 mg. % in oyster to 38 mg. % in short-necked clam.

(4) In the spoilage of shell-fish, the histidine in the free state is scarcely detectable (less than 1.0 mg. %) contrary to its presence in a large quantity in reddish muscle fish, and the histamine produced also is very small in amount (less than 1.0 mg. %).

(5) When reddish muscle fish meat is permitted to spoil in the presence of carbohydrates, its pH value shifts first to the acidic side, causing a marked retardation in histamine production.

(6) From the facts numerated above, it may be said that the so-called histamine-poisoning would hardly arise as far as the spoilage of shell-fish is concerned.

This work was supported by a grant-in-aid from the Ministry of Education of the Japanese Governmant.

References

1) Simidu, W., Hibiki, S., Sibata, S., and Takeda, K., *Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **19**, 871, (1953).
2) Takagi, I., and Simidu, W., unpublished.
3) Kobayashi, S., *Sci. Rep. Tohoku Univ.*, **4**, 193, (1928).
4) Dyer, W. J., *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **8**, 314, (1952).
5) Kimata, M., Kawai, A. and Tanaka, M., *Bul. Res. Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, **12**, 34, (1953).
6) Simidu, W., Hibiki, S. and Nagasaki, S., *Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **20**, 804, (1955).
7) Kimata, M., Kawai, A. and Tanaka, M., *Bul. Res. Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, **14** 25, (1954).
8) Simidu, W. and Hibiki, S., *Bul. Jap. Soe. Sci. Fish.*, **20**, 302, (1954).

魚類筋肉の解糖作用に関する酵素学的研究—I.
フォスフォリラーゼ作用

小野豊樹・永山文男
(東京水産大学)

Enzymatic Studies on the Glycolysis in Fish Muscle—I.
Activity of Phosphorylase

Toyoki ONO and Fumio NAGAYAMA

Through the decrease of glycogen and inorganic phosphorus as well as the increase of reducing sugar in the extract of fish muscle added with glycogen, the activity of phosphorylase of fish muscle was investigated.

An optimum pH was found to lie in the vicinity of 6.4, but at pH 5.3 and 7.8 the phosphorylase action seemed to be exhibited considerably. The activity of phosphorylase in the muscle stored at 25°C. for 6 hours was completely lost. The reaction rate was proportional to the substrate concentration in the reaction mixture for the extract of fresh muscle and not proportional for that of less fresh muscle. The activity of the enzyme in fresh muscle was inhibited at 0°C.. On the contrary, in less fresh sample, the activity of the enzyme was not inhibited at 0°C. Although the differences among the enzyme activities of four parts of fish body were not so clear, the dorsal muscle showed a slightly stronger activity than the caudal and ventral muscles.

魚肉の鮮度に関する既往の研究の多くは，魚肉成分の分析的観察に基くものであり，変質に関与する酵素系についての研究は殆んどなされていない。これは，死後の魚肉では酵素が急速に作用し，又失活することと，実験に必要な活魚の入手が他の陸上動物に比し困難であることなどによるものである。

山田等[1,2,3]は魚肉の鮮度に関連して，海産魚筋肉の死後における乳酸，還元糖，有機および無機燐，グリセロ燐酸等の成分変化を観察し，大野等[4]，藤巻等[5]は死後の魚肉の解糖作用について観察している。

著者等は先に魚肉の変質に関与する酵素作用を明らかにする必要があると考え，まず解糖酵素系について研究を続けているので，その結果の一部を報告する。

実験試料および方法

試料　東京湾で漁獲された小型のスズキ *Lateorabrax japonicus* (俗名フッコ) の活魚を3時間またはそれ以上水槽に蓄養したものを用いた。

酵素液　活魚を断頭，脱血後すばやく骨，皮，血合肉を除き，筋肉を氷冷しながら細砕し，その5gをベロナール緩衝液25mlと30秒ホモジナイズして，1,500×gで10分間遠心分離した上澄液を用いる。

酵素活力の測定　酵素液5mlに1%グリコーゲン1mlを加え，37°Cに1時間incubateしたならば，反応液を二分し，一部はトリクロール醋酸で除蛋白して無機燐と還元糖を定量し，一部はグリコーゲンの定量に当てる。通常フォスフォリラーゼ活力は，グルコース—1—燐酸からグリコーゲンを合成する割合を無機燐・エステル燐の比から測定する[6]が，粗酵素液を用いた本実験では，逆にグリコーゲンの分解から酵素活力を測定しようとした。無機燐は高橋の変法[7]，還元糖はHAGEDORN-JENSEN[8]の方法，グリコーゲンはGOOD等[9]の方法に準じて定量した。

実験結果および考察

pH の影響　クエン酸燐酸緩衝液，ベロナール緩衝液および硼酸塩緩衝液を用い，粗酵素液のみをpH 3.3

1957年5月27日受理

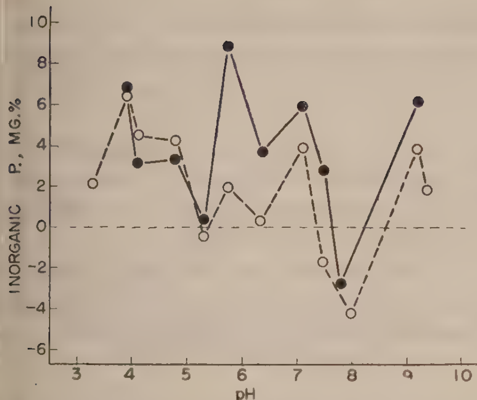


Fig. 1. Effect of pH on the variation of inorganic phosphorus in the enzyme solution during incubation. The enzyme solutions with various pH values were incubated for 1 hour at 37°C. without addition of substrate. The variation of inorganic phosphorus is expressed in mg. per 100 ml. of the solution.
●, sample 1, ○, sample 2.

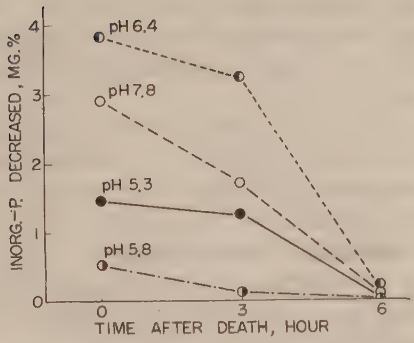


Fig. 2. Effect of pH on the consumption of inorganic phosphorus in the enzyme solution. The enzyme solutions, prepared after 0, 3 and 6 hours from the time of death, were incubated for 1 hour at 37°C. with addition of glycogen (200 mg. to 100 ml. of the solution). The decrease of inorganic phosphorus is expressed in mg. per 100 ml. of the enzyme solution.

~9.6 の間で夫々 incubate した場合に起る無機燐の変化量をみれば Fig. 1 のようなものであり，魚体によって多少差はあるが，同じような傾向を示す。無機燐の増加の少い点において，無機燐の消費が行われるのでないかと考え，pH 5.3, 7.8, 6.4 の三点と，その逆の点 5.8 を選び，グリコーゲンを添加して同様に実験したところ Fig. 2 のような結果を得た。pH 6.4 で無機燐の減少量が最も多く，pH 5.8 で最も少い。又 pH 5.3 および 7.8 でも，Fig. 1 から予想される通り，かなりの燐の消費がみられる。従って，フォスフォリラーゼ作用は pH 6.4 においてだけではなく，5.3, 7.8 でも促進されると考えられる。しかし反応量の最も大きいこと，兎筋肉のフォスフォリラーゼ[6] の至適 pH に符合すること，生理的条件に近いことなどの点から，以下の実験には pH 6.4 を採用した。なお pH 5.3, 7.8 については更めて検討したい。

魚肉鮮度の影響 無機燐の消費量の他にグリコーゲン分解量，還元糖生成量を，鮮度の異る魚肉から得た酵素液を用いて測定し，Fig. 3, a, b に示すような結果を得た。即ち Fig. 2 にもみられるが，死後6時間

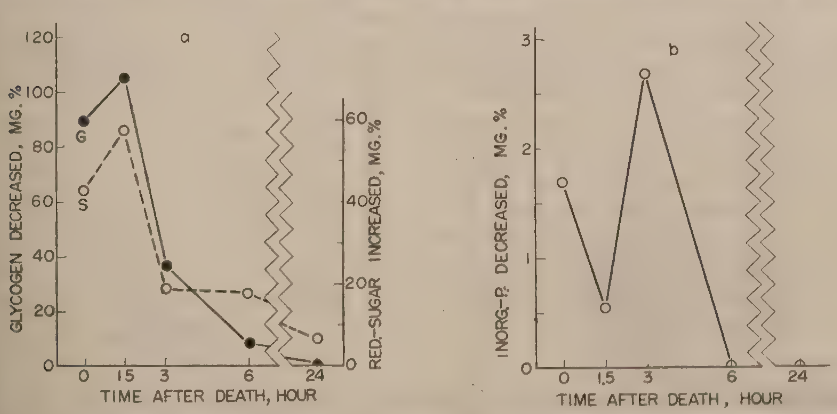
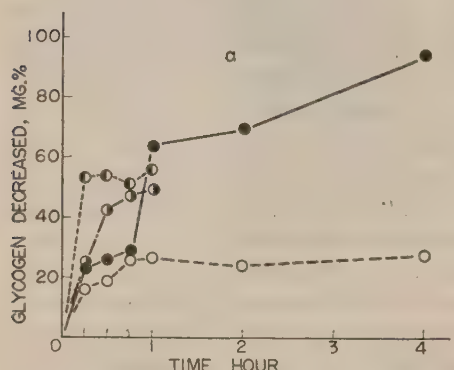


Fig. 3. a. Effect of preparation time on the breakdown of glycogen and the formation of reducing sugar. The enzyme solutions, prepared after 0, 1.5, 3, 6 and 24 hours from the time of death, were incubated for 1 hour at 37°C. with addition of glycogen.
G : glycogen, S : reducing sugar.
b. Effect of preparation time on the consumption of inorganic phosphorus.

25°C に放置した魚肉は，殆んど酵素活力を示さない。一方，死後 1.5 時間のものは，グリコーゲン分解量および還元糖生成量が死直後のものより多く，又燐の消費量は死後 3 時間のものに多い。このようなことは恐らく死直後の筋肉よりも死後 1.5〜3 時間経過した筋肉の方が，酵素又はその賦活物質が溶出し易い状態となるため，調製した粗抽出酵素液の酵素活力が大きく現われるのではないかと考えられるが，更に検討を要する。

グリコーゲンの分解量と還元糖の生成量が数値的に一致していないが，これは生成した還元糖が更に分解が進んだために，グリコーゲンの分解量よりも測定された還元糖が少かつたのではないかと考える。又燐の消費量変化と，グリコーゲンおよび糖の変化とが平行しないことは後の実験でも認められるが，粗酵素液を用いた本実験においては，その原因について言及することは難しい。

温度の影響　死直後の魚肉の酵素液では，グリコーゲンの分解，還元糖の生成は 0°C で殆んど抑制されるが，燐の消費は温度による差がない。死後 3 時間を経た魚肉の酵素液では，0°C の方が 37°C より僅かに反応量が少いが，酵素作用が 0°C で抑制されず，何れも死直後の場合に比して反応速度が甚しく大きく，短時間で平衡に達した（Fig. 4, a, b, c)。



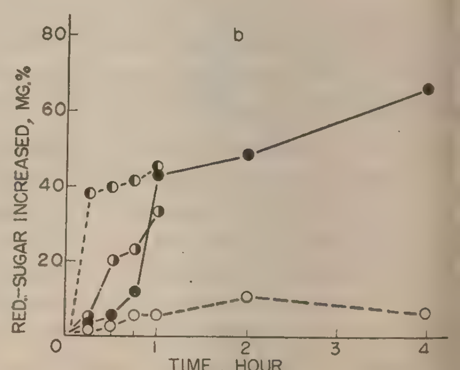
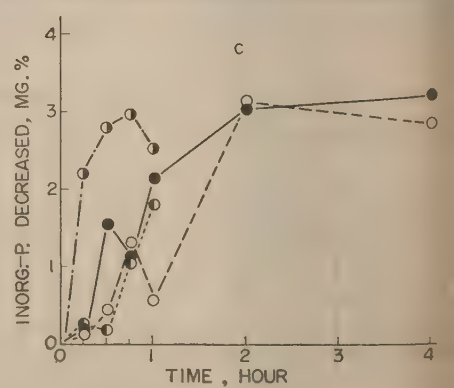
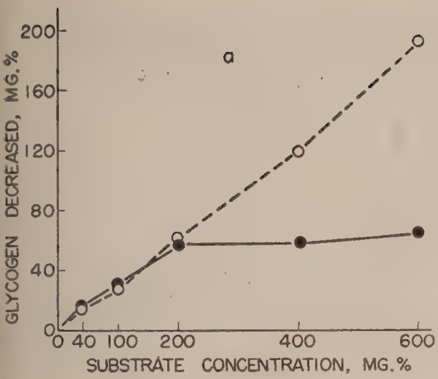


Fig. 4. a. Effect of temperature on the breakdown of glycogen.
b. Effect of temperature on the formation of reducing sugar.
c. Effect of temperature on the consumption of inorganic phosphorus.
The enzyme solutions with glycogen were incubated for 4 hours at 0°C. and 37°C., and analyzed at 1/4, 1/2, 3/4, 1, 2 and 4 hours after the time of inclubation. ● : the solution prepared immediately after the time of death and incubated at 37°C., ○ : at 0°C., ◐ : the solution prepared after 3 hours and incubated at 37°C., ◑ : at 0°C.



基質濃度の影響　添加基質の濃度を変えて，前述の三成分の変化量を測定した結果は，Fig. 5, a, b, c に明らかなように，死直後の魚肉から得た酵素液では，基質として添加したグリコーゲンの量に比例して，グリコーゲンの分解量と還元糖の生成量が増加するが，死後 3 時間のものでは 200 mg %以上グリコーゲン濃度を増しても反応量は増加しない。しかしながら，無機燐の消費量の変化は，グリコーゲンおよび糖とは全



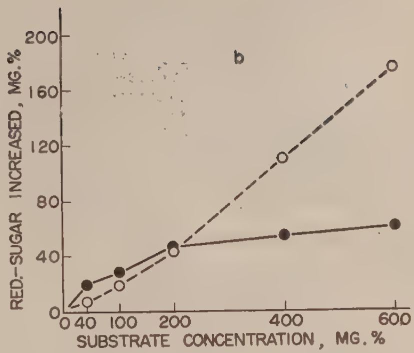
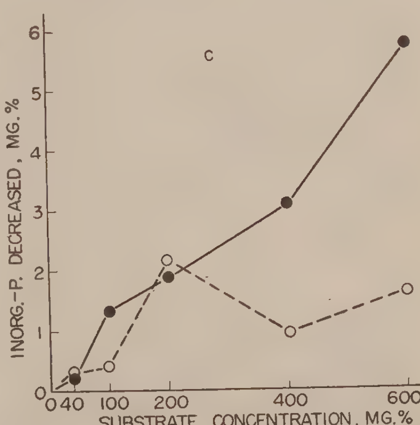


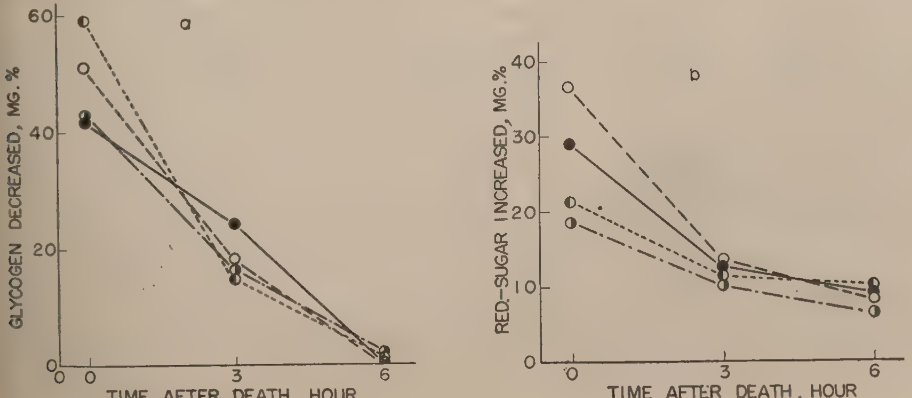
Fig. 5. a. Effect of substrate concentration on the breakdown of glycogen.
b. Effect of substrate concentration on the formation of reducing sugar.
c. Effect of substrate concentration on the consumption of inorganic phosphorus.
The enzyme solutions were incubated for 1 hour at 37°C. with addition of glycogen in different concentrations (40, 100, 200, 400, and 600 mg. to 100 ml. of the solution). ○ : the solution prepared immediately after the time of death, ● : the solution prepared after 3 hours from the time of death.



く逆の結果を示した。このように，無機燐の変化がグリコーゲンおよび還元糖の変化と併行しないことは，前述の通りどのような原因に基くものかは明かでない。

魚体の各部位の酵素活力 魚体を前背，後背，腹，尾の四部に分けて，各部筋肉の酵素活力を測定した結果は Fig. 6, a, b, c に示すように，部位による酵素活力の差異は明かに認められる程ではないが，前および後背部が腹および尾部より僅かに酵素活力が大きいように思われる。

以上の実験は粗酵素液について行われたものであり，前述の燐の変化量についての疑問の他に，不活性型のフォスフォリラーゼを賦活するアデニル酸[6,10]についても検討を必要とすると考えられる。それらの点を



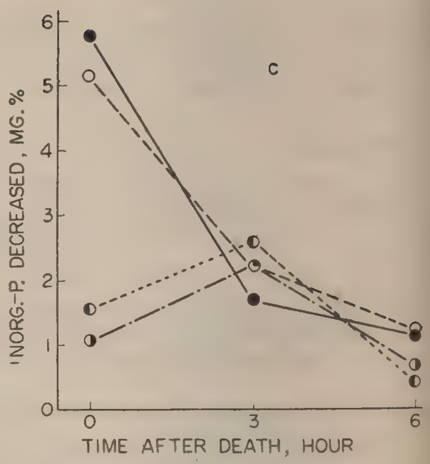


Fig. 6. a. Activity of the breakdown of glycogen in different parts of fish.
b. Activity of the formation of reducing sugar in different parts of fish.
c. Activity of the consumption of inorganic phosphorus in different parts of fish. The enzyme solutions were prepared from four different parts of fish after 0, 3 and 6 hours from the time of death, and incubated for 1 hour at 37°C. ● : posterior dorsal ○ : anterior dorsal, ◐ : caudal, ◐ : ventral muscles.

明かにするためには，高純度の酵素標品を得なければならない。

要　　約

1. スズキ筋肉のフォスフォリラーゼは，他の陸上動物のフォスフォリラーゼと同様 pH 6.4 附近でも最も活性であるが，5.3，7.8 でもかなりの活力を示す。

2. 25°C に死後6時間放置した魚肉は，フォスフォリラーゼ活力を失う。

3. 死後3時間を経過した魚肉のフォスフォリラーゼは，死直後のものに比し反応速度が極めて大であり，0°C でもその作用が抑制されないが，死直後の魚肉フォスフォリラーゼは 0°C で殆んど完全に抑制される。

4. 死直後の魚肉フォスフォリラーゼは，基質濃度に比例して反感量を増すが，死後3時間を経たものでは基質（グリコーゲン）濃度 200 mg %以上では，反応量が比例的に増加しない。

5. 魚体部位による酵素活力の差異は明瞭ではないが，僅かに背部筋肉が活力が大きいと思われる。

文　　献

1) 山田紀作・新間弥一郎： 本誌，**14**，23 (1948).
2) 山田紀作・新間弥一郎・鈴木たね子： 本誌，**14**，41 (1948).
3) 山田紀作： 本誌，**14**，44 (1948).
4) 天野慶之・尾藤方通・河端俊治： 本誌，**19**，487 (1953).
5) 藤巻正生・古城健三： 本誌，**19**，499 (1953).
6) G.T. Cori, B. Illingworth, and P.J. Keller : In "*Methods in Enzymology*" Vol. 1, 200, Academic Press, New York, N.Y. (1955).
7) 高橋善弥太： 医学と生物学，**26**，235 (1953).
8) H.C. Hagedorn and B.N. Jensen : *Biochem. Zs.*, **135**, 46 (1923), and ibid., **137**, 92 (1923).
9) C.A. Good, H. Kramer and M. Somogyi : *J. Biol. Chem.*, **100**, 485 (1933).
10) W.Z. Hassid, M. Doudoroff and H.A. Barker : In "*The Enzymes*" Vol. 1, Part 2, 1025, Academic Press, New York, N.Y. (1951).

水産動物筋肉中の有機燐酸化合物に関する研究—V. コイ筋肉中の核酸系化合物の凍結貯蔵中における変化に就いて

斎藤恒行・新井健一
(北海道大学水産学部水産化学教室)

Studies on the Organic Phosphates in Muscle of Aquatic Animals—V. Changes in Muscular Nucleotides of Carp During Freezing and Storage

Tsuneyuki SAITO and Ken-ichi ARAI

Fresh muscles of carp were stored at −5°〜−8°C. for several months. During that time the changes in amounts of nucleotides, nucleosides, and purine bases were studied by ion exchange chromatography. The results may be summarized as follows :

(1) During the course of slow freezing, as described in the previous paper, the rapid breakdown of ATP and the formation of IMP are observed.

(2) The amounts of IMP, thus formed, are decreased slowly with the lapse of time, furthermore IMP is likely to convert to inosine and lastly to hypoxanthine.

著者等はさきに新鮮コイ筋肉を使用して，その貯蔵温度と筋肉中に含まれる adenosine polyphosphate との関連に就いて報告した[1]。その中で特に筋肉を −5°〜−8°C 附近で緩慢に凍結を行つた際には，筋肉中の adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP) は凍結と同時に恐らく凍結に起因すると考えられる収縮のために，急激に脱燐酸が起こり，之と同時に脱アミノ作用を受けて inosine monophosphate (IMP) に変化することを報告した[2]。この現象は adenosine polyphosphate が分解して先ず adenosine monophosphate (AMP) を生じ，之が脱アミノ作用を受けて IMP に変るのではないかと論じた[3]。尚之等の実験は従来の報告[1] に於けるよりも長いイオン交換カラムを使用することによつて，之等核酸系化合物の分離を一層良くすることができた。本研究に於ても，この方法に従つて凍結コイ筋肉中の核酸系化合物の変化を追跡し，長期間にわたつて凍結貯蔵を続ける場合には，非常に緩慢ではあるが nucleotide から nucleoside に更に base に分解して行く事実を認めた。本報告に於ては，時間と共に移動する之等一連の変化に就いて述べる。

実験方法

試料として使用した市販養殖コイの処理及び酸可溶性核酸系化合物の分析に就いては，前報に報じた通りに行つた。即ち生鮮筋肉を低温度に於て迅速に採取した後，直ちに −5°〜−8°C の温度に貯蔵し，緩慢凍結を行い、一定時間後に取り出して 10 倍容量の 4 % $HClO_4$ を用いて，らいかい抽出を行い，その濾液に就いてイオン交換法による分析を行つた。イオン交換樹脂としては，Amberlite IRA-400 を $1.0^2 \times 12$ cm のカラムとして使用し、筋肉 1 g (湿重量) 相当の抽出液に就いて分析を行い，A (未知物質), B (hypoxanthine, inosine), C (AMP), D (IMP), E (ADP), F (ATP) の 6 成分の分離を行つた。尚B区分に就いては，イオン交換樹脂から溶出後 Norite に吸着させて後，充分水で洗つてから，アンモニヤ性エチールアルコールで溶出し，減圧濃縮してペーパークロマトグラフィーを行うと 2 成分に分別され，この 2 成分は後に述べるように inosine と hypoxanthine であることを認めた (Table 1, 2)。この成分を溶媒 (水) で抽出して一定量とし，吸光度を測定し，既に報告された分子吸光係数を用いてB区分中に於ける前記 2 物質の混在

1957 年 6 月 26 日受理

モル比を計算した[6]。又，ペーパークロマトグラフィーに於て採用した溶媒は，pH 10 水[4]，水飽和ブタノール[5]，ブタノール・酢酸・水[5]であつて，濾紙は東洋濾紙 No. 50 を使用した。展開は上昇法で行ない，展開後風乾して0.05％フルオレスセインソーダ液を噴霧し，紫外線ランプでスポットの位置を確認した。

実　験　結　果

新鮮筋肉と緩慢凍結を行つた筋肉との酸可溶性核酸成分の比較に関しては既に報告した[2)3)]。凍結貯蔵期間を更に長期に延長して，その間に起こる核酸成分の変化をヒストグラフで示すと Fig. 1 の如くになる。尚図中に示される数字は，A, C, E, F 区分に就いては流出液各 20 ml についての 260 mμ に於ける吸光度の総計をもつて，又 B，D 区分については，同じく 250 mμ における総計をもつて表した。又図中の D 区分は IMP であることは既に報告したが[2)]，B 区分は 260 mμ と 250 mμ における吸光度の比率（D_{250}/D_{260}）が約 1.4～1.5 の値を示しているから，この区分の成分は主として hypoxanthine 又は inosine であること

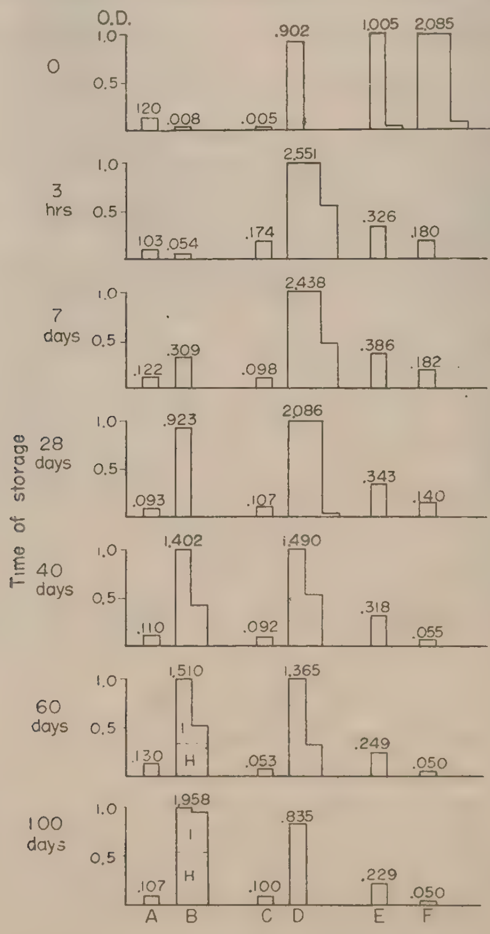


Fig. 1. Changes in the amounts of nucleotides, nucleoside and purine base in muscle of carp during frozen storage at −5°～−8°C.
Numbers are shown as total optical density at 260 mμ (A, C, E, F) and 250 mμ (B, D).
A : Unknown compound, B : Inosine (I) & Hypoxanthine (H), C : AMP, D : IMP, E : ADP, F : ATP.

Table 1. *Rf* values of fraction B

Solvent / Substance	H_2O sat. BuOH	BuOH (4) AcOH (1) H_2O (1)	H_2O pH 10
Adenine	0.44 (0.44)	0.52 (0.53)	0.33 (0.37)
Hypoxanthine	0.31 (0.32)	0.34 (0.36)	0.59 (0.63)
Fraction B a	0.14 (0.13)	0.20 (0.22)	0.77 (0.81)
Fraction B b	0.30	0.34	0.59
Base obtained from fraction B*	0.30	0.33	0.58

( ) …Reference [4),5)]

* Fraction B was decomposed by N HCl at 100°C. for 120 min.

Table 2. λmax., D 250/D 260 and D 280/D 260 of inosine and hypoxanthine fractions eluted from filter paper (chromatography)

	Inosine (a)			Hypoxanthine (b)		
	N NaOH	pH 6 H_2O	N HCl	2 N HCl	pH 6 H_2O	pH 11.2 NaOH
D 250/D 260	0.72 (0.71)	1.33 (1.35)	1.43 (1.44)	1.24 (1.22)	1.65 (1.66)	1.09 (1.08)
D 280/D 260	0.19 (0.17)	0.12 (0.10)	0.07 (0.04)	0.20 (0.11)	0.32 (0.24)	0.25 (0.17)
λ max. mμ	263 (263)	250 (250)	248 (248)	250 (251)	248 (248)	253 (253)

( ) …Reference.[6)]

が想像される。そこで，この区分をペーパークロマトグラフィーを行つた処，その結果は Table 1 に示す通り2成分からなつているとが分つた。b成分は hypoxanthine の標準物質と一致した R_f を示し，a成分はこの B 区分を塩酸で分解すると hypoxanthine だけの成分に変化してしまうこと，及び文献記載の inosine の R_f 値と一致することから，inosine であろうと考えた。それで著者等は，この2成分を種々の pH の溶媒で溶出して，それぞれ D_{250}/D_{260}，D_{280}/D_{260} 及び $\lambda_{max.}$ を測定して，Table 2 に示す如き結果を得た。この結果によつて a 成分並びに b 成分はそれぞれ inosine, hypoxanthine に就いて文献値[6)]とよく一致した値を示したので，以上の推定を更に確実なものとした。そこで，前述のようにこの2成分を溶出して吸光度を測定し，この B 区分中の hypoxanthine, inosine の存在モル比を計算し，この結果を B 区分の面積比として Fig. 1 B 区分に点線で示した。

以上述べた Fig. 1 の結果を総合すると，新鮮筋肉中の ATP 及び ADP は初期の緩慢凍結によつて急速に IMP に変化し[2)]，更に凍結貯蔵が続けば，生成した IMP は更にじよじよに分解して inosine から hypoxanthine へと分解して行くものであることが明らかとなつた。

考　　察

凍結筋肉中に於て，著者等が観察した以上に述べた変化は，細菌の作用等に関して無視することはできないであろうが，その反応は主として筋肉中の種々の酵素系によつて起つたものと解することができるであろう。然しその変化の過程は，大体次の段階をふんで行われるものと推測される。

$$ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow IMP \rightarrow Inosine \rightarrow Hypoxanthine$$

之等の反応の中で，筋肉の緩慢凍結によつて起こる現象は，AMP が増加しないで，大量の IMP が生成する点に問題があるが，この点に関しては，ATP 及び ADP の速かな分解によつて先ず AMP ができるのであるが，この AMP は AMP の deaminase 作用によつて直ちに IMP に変化すると考えた[3)]。その理由とする処は，AMP deaminase 作用は非常に速かであつて，ATPase 及び Myokinase 等の作用にも優ると

する記載に従つた[7]。更に又興味のあることは,新鮮イカを同様な方法で緩慢凍結を行い，貯蔵を続けた場合の成分変化であるが，この場合には緩慢凍結と同時に ATP 及び ADP は勿論減少し，之と同時に AMP が多量に生成する。然してイカの場合は IMP は全く認められない[8]。このことは，収縮によつて先ず AMP を生ずるのであるが，イカ肉に於ては AMP deaminase 機構を欠くために AMP が結集して生成し，その後の変化が緩慢なために AMP 蓄積の形をとるものと考えられる。イカ肉に関する之等一連の変化は，コイ筋肉に於ける変化機構に示唆を与えるものと考えている。尚イカ肉に就いての之等一連の動きに関しては，その他にも興味ある事実が発見されているが，別の機会に発表する。更に著者等は，筋肉の自己消化の過程に於ては，以上述べた段階の変化が非常に速かに行われて，腐敗の現象を呈するようになる頃には，大量の hypoxanthine の生成する事実を認めた[9]。然して従来筋肉中の呈味成分として報ぜられていた IMP, inosine 等の物質の筋肉中の保存量は，筋肉の貯蔵に関する多くの因子（例えば貯蔵温度，期間等）に大いに影響されるものであつて，一元的には決定されるべき性格のものでないとも考えている。

要　　約

新鮮コイ筋肉を −5°〜−8°C に数ケ月間貯蔵して，その間に於ける筋肉中の核酸系物質の変化を追跡して次の結果を得た。

（1）凍結初期の緩慢凍結現象が起るときには，筋肉中の ATP は速かに減少して IMP が生成する。

（2）生成した IMP は，その後貯蔵日時の経過と共に次第に減少して inosine となり，最後に hypoxanthine に変化して行く。

文　　献

1) 斎藤・新井： 本誌, **22**, 596 (1957).
2) T. Saito, K. Arai : Nature **179**, 820 (1957).
3) T. Saito, K. Arai : Arch. Biochem. Biophys. (印刷中).
4) E. Chargaff & J.N. Davidson : The Nucleic Acids Chemistry and Biology Vol. **1**, p. 499, 510 (1955).
5) 牧野： 生化学, **28**, 489 (1955).
6) E. Chargaff & J.N. Davidson : The Nucleic Acids Chemistry and Biology Vol. **1**, p. 252, (1955).
7) S.V. Perry : Physiol. Rev. **36**, 48 (1956).
8) 斎藤・新井： 未発表。
9) 斎藤・新井： 未発表。

トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキシドの定量法について――Dyer 法の検討

橋本芳郎・岡市友利
(東京大学農学部)

On the Determination of Trimethylamine and Trimethylamine Oxide. A Modification of the Dyer Method

Yoshiro Hashimoto and Tomotoshi Okaichi
(Faculty of Agriculture, Tokyo University)

The extraction of trimethylamine (TMA) with toluene was found to be affected by temperature, sorts of alkali and number of shaking times, as shown in Fig. 1 and Table 1, whereas the color development of TMA with picric acid was not influenced by temperature. From these observations, the extraction procedure was modified to be carried out at a definite temperature (30°C). In an incubator, test solutions, reagents and funnels were previously warmed before extraction and the funnels shaken 60 times were again left for 5 minutes in it before the separation of toluene layer.

In the second place, the same volume of 25 % potassium hydroxide solution was adopted instead of the original 50 % potassium carbonate solution, which was confirmed to be not suitable for the TMA solution resulting from the reduction of trimethylamine oxide (TMO) with Devarda's alloy and hydrochloric acid. Figures in Table 2 indicate that some constituents of the alloy may disturb the extraction of TMA in the case of potassium carbonate, but not in the case of the hydroxide. This agrees well with the fact that the carbonate forms white colloidal precipitates, perhaps carbonates of Al and Zn, in the aliqout of the heated reducing mixture, and the precipitates were suspected to adsorb or occlude TMA. The hydroxide does not give such precipitates.

The modification above-mentioned facilitated the determination of the smaller amount of TMO and the modified method gave over 97 % recovery down to 0.025 mg N which is far lower than 0.4 mg N in the Dyer method (Fig. 2). The recovery of TMO added to carp muscle extracts was also satisfactory (Table 3).

従来からトリメチルアミン（以下 TMA と略記）定量法[1)2)3)] が種々検討されて来たが，このうち Dyer のピクリン酸法[4)] が比較的多く用いられている。この方法は TMA 以外のアミン類も呈色すること，腐敗魚肉ではカタベリンが妨害すること[5)] 等，二，三欠点も指摘されているが，新鮮魚肉では簡易且つ正確な点で最も優れた方法と考えられている。

然し著者等は，この方法が時にかなりの誤差を伴うことを経験し，その原因を追求したところ，試料をアルカリ性にして TMA をトルオールに移行させる操作に問題があることが判つた。即ち，Dyer[6)] は TMA のトルオールへの移行は完全に行われると述べているが，従来注意されていなかつた温度，振盪回数等が相当影響することが認められた。

一方，トリメチルアミンオキシド（以下 TMO と略記）の定量法としては，これを還元して生ずる TMA を測定する方法[7)8)] が従来用いられており，Dyer 等[9)] は Devarda 合金を還元剤として使用する Norris & Benoit 法[7)] を修正し，生じた TMA を上記ピクリン酸法で測定して，従来定量限界が TMO-N 2 mg であつたのを 0.4 mg 迄引下げ，約 95 %の精度で測定しうるよう改良したが，その濃度以下では不明の原因により急激に精度が低下することを観察した。若し試料より 1：3 抽出液を作るとすれば，これは魚肉 100 g

1957 年7月8日受理

当り TMO として約 86 mg の濃度に相当し，かなり TMO 含量の高い試料しか正確には測定しえないことになる。又，少量の試料での測定は困難である。

我々がこれから実施しようとしている水産物に於る TMO の代謝の研究には，上記の理由でこの Dyer の方法は未だ不充分である。従つてこの改良を志したが，先ず TMO-N 0.4 mg 以下で急に回収率が低下する現象に注目し，色々吟味を行つたところ，やはり還元後アリカリ性で TMA をトルオールに移す操作に問題があることが判つた。そこで，原法の使用アルカリである炭酸カリを苛性カリに代え，上記 TMA の定量条件の検討結果を織込むことにより，TMO-N 0.025 mg 迄 100 %近い回収率で定量しうるように Dyer 法を修正することが出来た。以下その結果を報告する。

実験並びに結果

I. トルオールによる TMA 抽出操作の検討

定量条件を吟味する為とつた個々の操作は，Dyer の原法を僅か修正した佐々木，藤巻[10]の方法に準じた。TMA ピクレートの呈色はベツクマン光電比色計を用い，410 mμ で測定した。

a) 温度の影響　著者等は TMA の発色が試薬に殆ど変りがないのに，夏期に比し冬期著しく低いことに気がついた。これが時に経験する誤差の原因ではないかと考えられたので，TMA のトルオールへの移行あるいは TMA のピクリン酸による発色に対する温度の影響を調べてみた。

TMA 溶液，試薬及び分液漏斗を予め 30°C の孵卵器中で加温し，各試薬を合せ振盪した後，更に 5 分，30°C に放置して得た TMA トルオール溶液と約 10°C（室温）で常法通り操作して得たものを双方室温で脱水，発色させた。Fig. 1 に示すように，10°C で抽出した場合は TMA ピクレートの吸光値は 30°C のそれの約 80 %に過ぎず，抽出温度が著しく影響することがわかつた。又 30°C で得た TMA トルオール溶液を 10°C 及び 30°C で夫々発色させたが，吸光値に殆ど変りなく，発色自体には温度の影響のないことが示された。

以上，TMA のトルオールへの移行は，温度の影響を蒙り正値をうる為には，この操作を一定温度で行う必要があることが判つた。

b) 振盪回数の影響　アルカリ添加後，トルオールと振盪する回数を Dyer は約 40 回，佐々木・藤巻は一分間（約 150 回に相当する）に規定しているが，上述の如く TMA のトルオールへの移行が簡単でないことから，更に振盪回数の影響について検討を行つた。結果は Table 1 に示す如く，炭酸カリの場合 10°C では振盪回数とともに吸光値が僅かであるが増加し，30°C では 60 回で一定値に達した。一方 25 %苛性カリでは，10°C，30°C 何れに於ても 40 回で略々一定値に達している。尚，この表でみられるように，使用アルカリ，温度により一定量の TMA より得られる吸光値が異ることは注意を要する。著者等は 50 %炭酸カリを後記の理由により 25 %苛性カリに代えたが，発色液の吸光値の高いこと，及び少い振盪回数で一定値に達することも，苛性カリの有利な点といえよう。勿論 25 %苛性カリを使用した場合，TMA 濃度と吸光値の間には Fig. 1 に示すように Beer の法則が成立する。

Table 1. Effect of shaking on the extraction of TMA with toluene

Alkali used	Temperature °C	No. of shaking times 40	60	100	150
50 % K_2CO_3	10	0.137*	0.138	0.143	0.146
	30	0.179	0.186	0.186	0.185
25 % KOH	10	0.170	0.176	0.176	0.174
	30	0.193	0.193	0.195	0.193

* Figures denote the optical density of TMA picrate.

c) 無水芒硝の使用量　佐々木・藤巻は 0.5 g 使用するよう規定しているが，使用芒硝の脱水力不足から時に誤差の生ずることが認められたので，使用量を 1 g としたが，増量しても TMA の抽出，発色に何等の悪影響のないことを予め確めた。

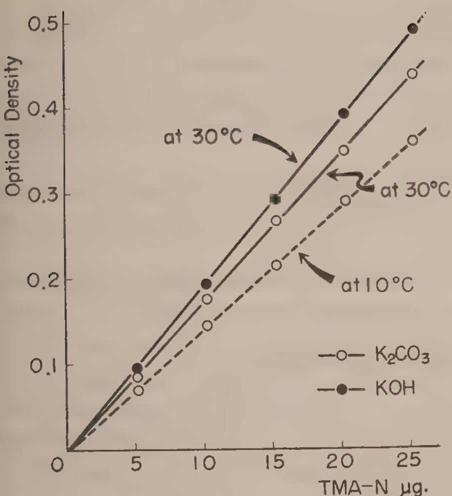


Fig. 1. Standard curve for TMA picrate.

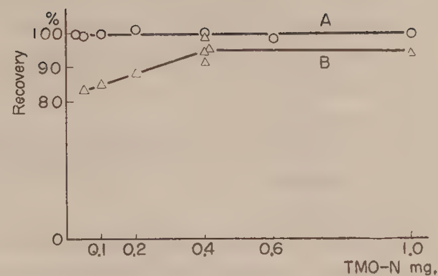


Fig. 2. Recovery of TMO.
Curve A : The modified method.
Curve B : The curve reported by Dyer.

Ⅱ. Dyer の TMA 定量法の修正

以上の実験結果から次のように原法を修正した。第一に使用アルカリ 50 %炭酸カリを同量の 25 %苛性カリに代える。次に試料及び各試薬は一定温度(30°C)に予め加温しておき，各試薬をあわせた後約 60 回振盪する。その後 5 分同温に放置し，分離したトルオール層を分け，室温にて 1 g の無水芒硝で脱水する。その他は佐々木・藤巻が記載した方法通りで差支えない。

Ⅲ. TMO 定量法の検討

Dyer は Fig. 2 に示すように TMO-N 0.4 mg 以下では急激に回収率が低下することをみたが，彼はこの原因として Devarda 合金への吸着，或いは TMO の TMA 以外への還元によるのではないかとしている。事実，著者等も Dyer の方法を追試してみたが，略々同じ曲線を得た。ところで，TMO を Devarda 合金と塩酸で還元した溶液について TMA 測定を行う場合は，TMA 標準液の場合と異なり，炭酸カリでアルカリ性にした時，白色コロイド状の沈澱がかなり生じ，トルオールと水の分離が悪くなる。恐らく，この沈澱は Devarda 合金より塩酸に溶出した Al 又は Zn の塩類が炭酸カリの添加によつて炭酸塩の膠状沈澱になるものと思われるが，これが TMA を吸着，或いは吸蔵して値を低くするのではないかと考えられた。従つて，これら金属塩と沈澱を生じない苛性カリをアルカリとして使用してみた。

TMO を加えないで Dyer 法通り，水 5 *ml* Devarda 合金 1 g 及び 6 N 塩酸 2 *ml* の混合物を 100°C，15 分加熱して濾過洗滌し，この濾液と洗液を合し，50，100，200 *ml* に夫々定容した。

これに Table 2 に示す TMA 量となるように TMA 標準液 1 *ml* を添加して，以下炭酸カリの場合は

Table 2. Recovery (%) of TMA added to the filtrate of the mixture*, in which Devarda's alloy was heated with hydrochloric acid.

a) The Dyer method.

b) The modified method by the present authors, using 25 % KOH as alkali.

TMA added N-μg/6 *ml*	Dilution of the filtrate (*ml.*) 50	100	200	TMA added N-μg/6 *ml*	Dilution of the filtrate (*ml.*) 50	100	200
5	79.0%	83.0%	90.2%	5	103.4%	105.8%	97.7%
10	86.9〃	89.1〃	94.9〃	10	97.8〃	99.4〃	98.9〃
20	79.6〃	90.3〃	94.2〃	20	97.5〃	98.9〃	97.5〃

* The mixture of distilled water 5 ml, 6 N HCl 2 ml and Devarda's alloy 1 g. was heated for 15 mins. as described by Dyer and the filtrate was made up to 50, 100 and 200 *ml.* respectively. To 5 *ml.* of the filtrate, 1 *ml.* of standard TMA soln. was added.

DYER の TMA 定量法の原法通り，苛性カリの場合は前記著者の修正法通り操作して TMA の回収率をみた。アルカリとして炭酸カリを使用した場合，稀釈度の低いもの程回収率が低下したが，一方苛性カリの場合は白色沈澱を殆ど生ぜず，且つ Devarda 合金よりの溶出物による妨害は認められなかつた。以上の結果から，DYER 法による TMO 定量に於ける回収率低下は DYER が考えた合金への吸着，或いは TMO の TMA 以外の物質への変化によるのではなく，Devarda 合金よりの溶出物が炭酸カリと反応して定量を妨害することが明らかになつた。

然し，その後繰返し行つた実験に於て抽出温度を 30°C として振盪回数を多くする処置を施せば，炭酸カリでも殆ど回収率低下をみないこともあつた。然し，苛性カリを使用した方が白色沈澱を生ぜず，抽出操作は容易且つ安全である。

次に，DYER の方法通り TMO 標準液の還元を行い，先述の修正法で測定，回収率を見た結果は Fig. 2 に示す通りで，TMO-N として 0.025 mg 迄 97 %以上の回収率で定量することが出来た。尚，これ以下の濃度ではベックマン光電比色計の精度が問題となり，ピクレート法では略々これが限界値と考えられる。

更に本修正法の信頼度を見るため，鯉肉抽出液に添加した TMO の回収率を測定してみた。即ち，生きた鯉から採つた背肉磨砕物 100g に 10 %三塩化酢酸 200 *ml* を加え，時々攪拌しながら 2 時間放置後，濾過して TMA 及び TMO を含まない抽出液を得た。この抽出液 20 *ml* に Table 3 に示す如く，各濃度の標準 TMO 溶液 10 *ml* を加え，その 5 *ml* をとり還元，上述の如く定量した。回収率は 97～101 %の値が得られた。

Table 3. Recovery of TMO added to the carp muscle extracts*

TMO added N mg/5 ml.*	0.049	0.202	0.404	0.802
TMO found N mg/5 ml.	0.049	0.197	0.404	0.811
Recovery %	100.0	97.8	100.0	101.1

* To 20 ml of the trichloracetic acid extracts of carp muscle (1 : 2), 10 *ml* of the standard TMO soln. was added and 5 *ml* of this mixture was used for the recovery test.

以上，1 : 3 抽出液を作るとして魚肉 100 g 当り DYER 法では TMO として 86 mg迄しか定量しえないのに対して，本修正法を用いれば 5.4 mg 迄正確に測定し得ることが判つた。

要　　　約

DYER 法によるトリメチルアミン (TMA) 及び同オキシド (TMO) の定量法を検討し，原法に二，三欠陥りあることを認めた。即ち，炭酸カリでアルカリ性とした試料より TMA をトルオールに移す際，温度及び振盪回数が影響し，これが誤差の原因となることを確め，使用アルカリを苛性カリに変更し，定量操作を一定温度 (30°C) に於いて行うことにより良好な結果を得た。

又，DYER の TMO 定量法に於て定量限界が 5 *ml* 又は 10 *ml* 中 0.4 mg-N であつたものを，上記 TMA 定量法の修正の結果，0.025 mg-N 迄引下げ 97 %以下の回収率を得ることが出来た。

終りに臨み，終始御指導を賜つた森高次郎教授に深甚なる謝意を表する。

文　　　献

1) W. LINTZEL : Biochem. Z., **273**, 243 (1934).
2) E.J. CONWAY : Microdiffusion Analysis and Volumetric Error, p. 176 (1950)., Determination of Volatile Amines.
3) B.T. CROMWELL : Biochem. J., **46**, 578 (1950).
4) W.J. DYER : J. Fish. Res. Bd. Can., **6**, 351 (1945).
5) 斎藤・鮫島 : 日農化，**30**，531 (1956).
6) W.J. DYER : J. Fish. Res. Bd. Can., **7**, 576 (1950).
7) E.R. NORRIS and G.T. BENOIT : J. Biol. Chem., **158**, 433 (1945).
8) O.A. RONALD and F. JAKOBSEN : J. Sci. Chem. Ind., **66**, 160 (1947).
9) W.J. DYER, F.E. DYER and J.M. SNOW : J. Fish. Res. Bd. Can., **8**, 309 (1952).
10) 佐々木・藤巻 : 日農化，**27**，420 (1953).

マグロ筋肉の脂質—III. 血合筋及び普通筋のレシチン*

五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男
（北海道大学水産学部水産化学教室）

Lipids of the Muscle of Tuna, *Thynnus orientalis*—III. Lecithins of the Dark-Colored and Ordinary Muscles*

Hisanao IGARASHI, Kōichi ZAMA and Muneo KATADA

Lecithins were extracted and purified from the dark-colored and ordinary muscles of a tuna, *Thynnus orientalis*.

The mixed fatty acids, prepared from these lecithins by alkali-hydrolysis, were separated into three portions, solid, lower and higher-unsaturated acids, with a combination of lead salts-ethanol and lithium salts-acetone fractionations. Individual acids were identified with paper chromatography, saturated acids and hydrogenated polyethylenic acids as their 2,4-dinitrophenylhydrazides, and mono- and diethylenic acids as their mercuric acetate complexes. Spectrophotometry of the alkali-isomerized higher-unsaturated acids indicated the presence of conjugated di- to hexaene.

The composition of these mixed fatty acids presented in Table 8 shows the component fatty acids of the lecithin from dark-colored muscle are more unsaturated than those from ordinary muscle.

The presence of cephalins, acetalphospholipids and sphingomyelin was also shown in the ethanol extracts of these tissues.

著者らは前2報[1]においてクロマグロ，*Thynnus orientalis* の普通筋及び血合筋から得たアセトン可溶性脂肪の脂肪酸と不鹸化物について報告したが，次いで燐脂質の分離，検索を行つた結果を報告する。魚類筋肉の燐脂質については BÄHR・WILLE[2]，KAUCHER ら[3]，松本[4] による定量値，LOVERN 及びその共同研究者[5] によるハドツク，*Gadus aeglefinus*，及びタラ *G. callarias* について詳細な研究があり，またフナの血合筋が普通筋の約2倍のリポイド燐を含むことが報告されている[6]。著者らはマグロ血合筋及び普通筋脂質のエタノール可溶区分からレシチンを分離し，構成脂肪酸の検索を行つた結果，血合筋のレシチンと普通筋のレシチンは特に相異る脂肪酸を含まないが，前者は後者に比して不飽和度の高い脂肪酸をより多く含むことをみた。

実験及び結果

脂質抽出操作及び分析法は前報[1] 同様である他，グリセリンは BLIX[7]，スフィンゴシンは MCKIBBIN ら[8] の方法により，また高級アルデヒドは塩化第2水銀で水解後 WITTENBERG ら[9] の方法により定量した。試料は 1955 年8月下旬に三陸沖で漁獲されたクロマグロから得た血合筋と普通筋からアセトン可溶区分を除いたものを用いた（前2報[1] 参照）。

（1） **エタノールによる脂質の抽出及びレシチンの精製**　血合筋 4000 g をアセトン抽出した残渣 1200 g とアセトン抽出物から分離したアセトン不溶部を再三エタノールで抽出，抽出液を濃縮して得た残渣をエーテルで抽出した。エーテル溶液を水洗，乾燥後溶媒を除き，少量のエーテルから無水エタノールで分別をくりかえして，エタノール可溶部と不溶部にわけた。不溶部はケファリンの調製に供した。可溶部エタノー

1957 年7月 16 日受理

* 水産動物燐脂質に関する研究—XIII.　Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals-XIII.

ル溶液に $CdCl_2$ エタノール飽和溶液を沈澱がもはや生じなくなるまで加え，氷室に1夜放置後吸引濾別して20.5g の燐脂質—$CdCl_2$ 複塩を得た。この複塩をクロロホルムに溶解，等容の 30 %エタノールと5分間激しく振盪して，$CdCl_2$ をエタノール層に移行する操作をくりかえして $CdCl_2$を完全に除いた後，溶媒を溜去して遊離燐脂質 13.5g を得た。このものを 30 倍容の無水エタノールに溶解して1夜氷室に放置して生じた沈澱（区分—A）を除き，溶液をアルミナ吸着柱（15×670 mm，100 g．アルミナは和光純薬製品を 400°C. に2時間加熱)を通過し，流出液から溶媒除去，残渣を乾固してレシチン 5.2g を得た。普通筋 5370g のアセトン抽出残渣 1960g とアセトン抽出物からのアセトン不溶部から同様にしてエタノール抽出，エーテル可溶区分をとり，このエタノール可溶区分から $CdCl_2$ 複塩 4.1g を得，これより遊離燐脂質 2.8g を得た。このものを無水エタノール溶液として氷冷し，沈澱（区分—A）0.7g を除いたのち，アルミナ吸着柱（15×150mm，20g）を用いてレシチン 1.1g を得た。これら2種の筋肉から得たレシチン及び区分—Aの性状をそれぞれ Table 1 及び 2 に示す。

Table 1. Properties of Lecithins

Lecithin from	Yield (% from fresh tissue)	Phosphorus (%)	Nitrogen (%)	Choline (%)	Glycerol (%)	Aldehydes (%)	Iodine no.	N/P	Choline/P	Glycerol/P
Dark-colored muscle	0.13	3.88	1.78	15.05	11.86	trace	109.7	1.01	0.93	1.03
Ordinary muscle	0.02	3.86	1.78	14.98	11.82	trace	95.5	1.02	0.99	1.03

Table 2. Properties of Fractions A

Fraction A of	Phosphorus (%)	Nitrogen (%)	Iodine no.	Glycerol (%)	Choline (%)	2-aminoethanol (%)	Serine (%)	Sphingosine (%)	Aldehydes (%)
Dark-colored muscle	3.53	1.90	56.9	7.87	7.65	1.76	0.48	12.60	0.35
Ordinary muscle	3.46	1.85	49.9	7.66	6.61	2.63	1.35	8.80	0.29

（2） **レシチンの脂肪酸**　血合筋のレシチン 4.0g を 2N KOH—エタノールで1時間鹸化して混合脂肪酸 2.6g を得た。同じく普通筋のレシチン 0.8g から混合脂肪酸 0.5g を得た。これらを鉛塩エタノール法により固体酸と液体酸にわけ，後者を更にリチウム塩アセトン法により低度及び高度不飽和酸に分けた。これらの結果を Table 3 に示す。

Table 3. Fractionation of the Component Acids of Lecithins

Lecithin of	Mixed acids		Solid acids		
	Neutr. no.	Iodine no.	Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.
Dark-colored muscle	199.8	171.3	40.2	210.3	24.2
Ordinary muscle	199.6	137.4	43.3	209.1	24.8

Lecithin of	Lower-unsaturated acids			Higher-unsaturated acids		
	Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.	Yield (%)	Neutr. no.	Iodine no.
Dark-colored muscle	23.6	199.6	120.8	36.2	186.6	354.3
Ordinary muscle	30.0	199.3	121.9	26.7	188.5	336.8

（i） 飽和脂肪酸： 前記固体酸の酸塩化物をピリジン中で2,4—ジニトロフェニルヒドラジンと反応して脂肪酸のジニトロフェニルヒドラチドを生成し,これをペーパークロマトグラフにより検索した[10] (Table 4)。

（ii） モノ及びジエチレン酸： 前記低度不飽和酸をメチルエステルとし，メタノール溶液中で醋酸第2水銀と反応して生成した醋酸水銀附加物を，ペーパークロマトグラフにより検索した[11] (Table 5)。

Table 4. R_f Values of 2,4-dinitrophenylhydrazides of Component Saturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Myristic	Palmitic	Stearic	Arachidic	Behenic
Dark-colored muscle	0.42	0.32	0.21	—	—
Ordinary muscle	0.40	0.32	0.21	—	—
Standard	0.40	0.31	0.21	0.11	0.07

* Paper : Toyo No. 2. Moving Phase : 90 % Methanol-acetic acid-tetralin (10 : 2 : 1). Stationary Phase : Tetralin. Development : Ascending at 30°C. Detection : N/2 KOH in ethanol.

Table 5. R_f Values of Mercuric Acetate Complexes of Component Lower-Unsaturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Zoomaric	Oleic	Eicosenoic	Linoleic	Linolenic
Dark-colored muscle	0.28	0.14	0.07	0.50	—
Ordinary	0.27	0.16	0.06	0.50	—
Standard	0.27	0.16	0.09	0.51	0.73

* Paper : Toyo No. 50. Moving and stationary phases are the same as Table 4. Detection : 0.2 % diphenylcarbazone in ethanol.

(iii) 高度不飽和酸： 前記高度不飽和酸を Herb ら[12]の方法により 21 % KOH—グリコールで異性化して紫外部吸収を測定し，Hammond ら[13] の式によりジエン—ヘキサエンの含量を算出した (Table 6)。また高度不飽和酸を水添して得られた飽和酸を前述の固体酸と同様に 2,4—ジニトロフェニルヒドラチドとしてペーパークロマトグラフにより検索した (Table 7)。

Table 6. Spectrophotometric Analysis of Component Higher-Unsaturated Acids of Lecithins*

Lecithin of	Dienoic (as linoleic)	Trienoic (as linolenic)	Tetraenoic (as arachidonic)	Pentaenoic (as clupanodonic)	Hexaenoic (as docosahexaenoic)
Dark-colored muscle	3.2	10.5	32.3	28.7	22.5
Ordinary muscle	6.1	15.5	32.8	27.5	14.0

* Isomerized with 21 % KOH in glycol at 180°C. for 15 minutes.

Table 7. R_f Values of 2,4-Dinitrophenylhydrazides of Hydrogenated Component Higher-Unsaturated Acids*

Lecithin of	Palmitic	Stearic	Arachidic	Behenic
Dark-colored muscle	—	0.20	0.12	0.06
Ordinary muscle	—	0.20	0.11	0.06

* Method is the same as Table 4.

考　　察

（i） レシチン構成脂肪酸の組成： Table 3 の固体酸に混在する不飽和酸を一応オレイン酸と仮定し，その沃素価から飽和酸量を算出した。また Table 6 のジエン～ヘキサエン量を混合脂肪酸に対する％に換算

Table 8. Composition of Component Fatty Acids of Lecithins

		Lecithin of	
		Dark-colored muscle	Ordinary muscle
Saturated acids	%	29.4	31.4
	Component	C_{14}, C_{16}, C_{18}	C_{14}, C_{16}, C_{18}
Mono- and dienoic acids	%	36.5	45.7
	Component	$C_{16}(-2H)$, $C_{18}(-2H)$, $C_{20}(-2H)$, $C_{18}(-4H)$	$C_{16}(-2H)$, $C_{18}(-2H)$, $C_{20}(-2H)$, $C_{18}(-4H)$
Polyenoic acids	Trienoic %	3.8	4.1
	Tetraenoic %	11.7	8.8
	Pentaenoic %	10.4	7.3
	Hexaenoic %	8.2	3.7
	Total %	34.1	22.9
	Component	C_{18}, C_{20}, C_{22}	C_{18}, C_{20}, C_{22}

し、トリエンからヘキサエンまでの合計を求め，これら以外の不飽和酸をすべてモノ及びジエチレン酸からなるものと考えた。これらの結果及び Table 4～7 の結果から得られた血合筋と普通筋のレシチンの構成脂肪酸組成を Table 8 に総括した。これにより明らかなように，一方のレシチンにのみ存在する脂肪酸は特に見当らないが、血合筋レシチンは高度不飽和酸に富み飽和酸及びモノー，ジエチレン酸の量が普通筋レシチンよりも少ない。このような現象は，両筋肉のアセトン可溶区分の脂肪酸組成に見られたものであり，脂質各成分に於て含量が両筋肉により異るのみではなく，構成脂肪酸が血合筋ではより不飽和な状態にあることが推察される。またこの差異は Table 3 の結果と一致し，更に Table 1 の両筋肉のレシチンの沃素価の差異ともよく一致する。

（ii） 区分一A ： Table 2 の結果からみて，2-アミノエタノール及びセリン含有ケファリン、及びアセタール脂質の存在が考えられ，スフィンゴシン含量が比較的多いことから，スフィンゴミエリンも相当量存在する。このことはN/P が1よりも僅か大なること，及びグリセリン/P が小さいことによつても支持される。スフィンゴシン対コリンの分子比は1よりも大であることから,レシチンも混存することが推定される。これは最初のエタノール溶液から $CdCl_2$-複塩として精製されたために,再びエタノール溶液として冷却された際に，ケファリン，スフィンゴミエリンが不溶となつて沈澱し，その時にレシチンをも伴つたものと考えられる。上記の燐脂質—Nの合計が全Nに殆ど等しい故，それ以外の成分は存在しても，微量であろうと考えられる。

要　　　約

クロマグロ血合筋及び普通筋からレシチンを分離し，その構成脂肪酸をペーパークロマトグラフ及び分光分析により検索した。その結果，両筋肉のレシチンは互に特に異る脂肪酸を含まず，ただ血合筋のレシチンが高度不飽和酸を多量に含むことを明かにした。

本研究は文部省科学研究綜合研究〃魚類の血合肉と普通肉の生化学的研究〃の分担として行つた。

文　　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男： 本誌，**22**，787，791（1957）.
2) O. Bähr, O. Wille : *Fischwirtschaft*, **7**, 129 (1931).
3) M. Kaucher, H. Galbraith, V. Button, H.H. Williams : *Arch. Biochem*, **3**, 203 (1943).
4) 松本文夫： 本誌，**16**，303（1950）.
5) J.A. Lovern et al. : *Biochem. J.*, **54**, 126, 128, 559 : **55**, 686 (1953) ; **57**, 610 (1954) ; **62**, 99, 107 (1956).
6) N. Suzuki : *Nagoya J. Med. Sci.*, **17**, 271 (1954).
7) G. Blix : *Mikrochim. Acta*, **1**, 75 (1937).
8) J.M. McKibbin, W.E. Taylor : *J. Biol. Chem.*, **178**, 29 (1949).

9) J.B. Wittenberg, S.R. Korey, F.H. Swenson : *Ibid.*, **219**, 39 (1956).
10) Y. Inoue, M. Noda : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 214 (1955).
11) 野田万次郎・平山 修・井上吉之 : 農化, **30**, 106 (1956).
12) S.F. Herb, R.W. Riemenschneider : *Anal. Chem.*, **25**, 953 (1953).
13) E.G. Hammond, W.O. Lundberg : *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **30**, 433 (1953).

マグロ筋肉の脂質—IV. 血合筋及び普通筋のケファリン*

五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男
（北海道大学水学部水産化学教室）

Lipids of the Muscle of Tuna, *Thynnus orientalis*—IV. Cephalins of the Dark-Colored and Ordinary Muscles*

Hisanao IGARASHI, Kōichi ZAMA and Muneo KATADA

Cephalin fractions were obtained from the dark-colored and ordinary muscles of a tuna, *Thynnus orientalis*.

Fractional precipitations of these fractions from chloroform with absolute ethanol yielded five groups respectively and indicated the presence of phosphatidyl serine, phosphatidyl ethanolamine, a small amount of inositol containing and threonine-containing lipids.

It was also found that the component fatty acids of the cephalins from dark colored muscle consist of palmitic, stearic, zoomaric, oleic, linoleic and linolenic acids, while those from ordinary muscle consist of only saturated and monoethylenic acids described above.

著者らは既報[1]にてクロマグロ，*Thynnus orientalis* の血合筋及び普通筋のアセトン可溶性脂肪の脂肪酸と不鹼化物について，次いでレシチンについて報告したが，本報にてはケファリン区分について得た結果をのべる。魚類筋肉のケファリンの存在については LOVERN ら[2]によるハドツク，*Gadus aeglefinus*, とタラ *G. callarias*, の筋肉から向流分配によりイノシツト含有燐脂質及び Phosphatidyl ethanolamine を分離し，Phosphatidyl serine が僅かに存在することを認めた例と，BÄHR ら[3]と KAUCHER ら[4]が数種の魚類筋肉中の定量を行つている程度で血合筋についての研究は全く行われていない。著者らはマグロ血合筋及び普通筋のおのおのから，いわゆるケファリン区分を得，これらをクロロホルム溶液から無水エタノールにより分別沈澱を行つてイノシツト含有燐脂質，セリン含有燐脂質及び 2-アミノエタノール含有燐脂質のそれぞれに富む区分を分離した。このときセリン含有区分に少量のスレオニンの存在を認め，ペーパークロマトグラフによりこれが脂質に結合していることを推定した。また前記の区分の構成脂肪酸の検索を行い，血合筋のケファリン各区分は普通筋のそれらに比して不飽和酸を多く含むことを認めた。

実験及び結果

操作，分析法及び試料は前報[1]と同様である。

（1） ケファリン区分の分離及び分別

粗ケファリン区分の分離： 血合筋と普通筋のそれぞれを予めアセトン，次いでエタノールで再三抽出した残渣を真空中で乾燥し，その粉末を5容の石油エーテルで5回抽出液を濃縮した。またアセトン抽出物及びエタノール抽出物より溶剤分別によつて生じたアセトン及びエタノールに不溶の脂質（既報[1]参照）を同様石油エーテルで抽出した．上記のようにして得た石油エーテル抽出物を合して少量の石油エーテルからアセトンで，次いでエタノールで再沈澱してアセトン及びエタノール可溶性物質を除き，沈澱を再び多量の石油

1957 年 7 月 16 日受理

* 水産動物燐脂質に関する研究—XIV.

** Studies on the Phosphatide of Aquatic Animals—XIV.

エーテル溶解，氷室に1夜放置して生じた不溶物を除去後溶剤を溜去して乾固，粗ケファリン区分を得た。

ケファリンの分別：血合筋及び普通筋の粗ケファリン区分のそれぞれ 7.0 g, 8.0 g をとり，FOLCH[5)]の方法により分別沈澱を行つた。粗ケファリンを 1 g について 8 cc のクロロホルムに溶解，9.1 cc の無水エタノールを加えて氷室に1夜放置して生じた沈澱を遠心分離して区分－1とし，この上澄液に無水エタノール 2.7 cc を加え1夜氷室に放置して生じた沈澱を区分－2，更に上澄液に無水エタノール 25 cc を加えて1夜氷室中に保つて得た沈澱を区分－3，上澄液を半容に濃縮し，1夜氷室に放置して生じた沈澱を区分－4 この上澄液を約 1 cc に濃縮して約5倍容のアセトンを加え1夜氷室に放置後遠沈して区分－5とする。

Table 1. Fractionation of the Cephalin of Dark-Colored Muscle.

	Original cephalin	Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4	Fraction 5
Yield g	8.66*	0.12	0.20	2.51	0.46	1.68
Yield %	0.22*	1.7	2.9	37.2	6.6	24.0
Phosphorus %	3.72	4.23	3.86	3.80	3.71	3.85
Nitrogen %	1.86	1.85	1.77	1.75	1.72	1.72
Serine %	4.82	6.20	6.25	7.10	4.15	2.66
Ethanolamine %	3.85	2.05	2.72	2.63	4.51	6.05
Glycerol %	10.30	4.18	10.04	11.74	11.35	11.20
Inositol	+	++	+	−	−	−
Aldehydes %	0.63	—	—	—	—	—
Ash %	7.30	—	—	6.6	5.4	5.2
Iodine no.	68.3	—	—	67.2	70.1	67.0
N/P, molar ratio	1.10	0.97	1.01	1.02	1.03	0.99
Serine/P, 〃 〃	0.38	0.43	0.48	0.55	0.33	0.20
Ethanolamine/P, 〃 〃	0.52	0.26	0.36	0.35	0.26	0.80
Glycerol/P, 〃 〃	0.93	0.33	0.87	1.04	1.00	0.98

* Yield from fresh tissue.

Table 2. Fractionation of the Cephalin of Ordinary Muscle

	Original cephalin	Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4	Fraction 5
Yield g	9.20*	0.08	0.20	4.72	1.66	0.55
Yield %	0.17*	1.0	2.5	59.0	20.7	6.87
Phosphorus %	3.76	4.33	3.98	3.76	3.80	3.75
Nitrogen %	1.88	1.72	1.77	1.80	1.77	1.72
Serine %	4.95	6.51	6.25	6.10	3.05	2.05
Ethanolamine %	3.81	1.82	2.61	2.33	5.09	6.14
Glycerol %	10.12	3.25	7.00	11.25	11.66	11.30
Inositol	+	++	+	−	−	−
Aldehydes %	0.50	—	—	—	—	—
Ash %	7.56	—	—	7.2	6.4	5.0
Iodine no.	24.0	—	—	20.0	22.4	20.7
N/P, molar ratio	1.10	0.88	0.98	1.06	1.03	1.01
Serine/P, 〃 〃	0.39	0.44	0.45	0.48	0.24	0.16
Ethanolamine/P, 〃 〃	0.51	0.21	0.33	0.31	0.68	0.83
Glycerol/P, 〃 〃	0.91	0.25	0.59	1.00	1.03	1.01

* Yield from fresh tissue.

上記の如くして得た各区分の収量・性状を粗ケファリンのそれらと共に Table 1 及び 2 に示す。尚イノシットは 6 NHCl で 100°C, 12 時間加水分解したものについてペーパークロマトグラフ[6]により定性を行つた。濾紙は東洋濾紙 No. 2, n－ブタノール－エタノール－水（40：11：19）で上昇法で展開，アンモニア性硝酸銀溶液を噴霧して発色。イノシットの R_f 値は 0.10，この他にすべての区分にグリセリン（R_f 値 0.43）を認めた。

（2） **ケファリン加水分解物の検索**

窒素塩基： 血合筋及び普通筋ケファリンの区分－1～5をそれぞれ 6 N HCl で 100°C, 12 時間加水分解して得た生成物について塩基部をペーパークロマトグラフにより定性した。東洋濾紙 No. 50 で n－ブタノール－ジエチレングリコール－水（4：1：1）により上昇法で展開, ニンヒドリンによる発色の結果, 全区分にセリン（R_f 値 0.18），2－アミノール（R_f 値 0.35），アンモニア（R_f 値 0.40）及びセリン燐酸又は 2－アミノエチル燐酸（何れも R_f 値 0.06～1.0）のスポットを認めたが，同時に血合筋及び普通筋の区分－2～4に微弱なスレオニン（R_f 値 0.30）のスポットを認めた。これを確める目的で，水性フェノールに少量の KCN を加えたものを展開剤とし，NH_3 蒸気中で上昇法によりペーパークロマトグラフを行つた。その結果血合筋及び普通筋の区分2～4にそれぞれ純品と一致するセリン（R_f 値 0.37），2－アミノエタノール（R_f 値 0.80）の濃いスポットの他にスレオニン（R_f 値 0.55）のスポットの存在を認めた。次いで水解物の濃度にあわせて調製した未分解のこれらの区分の溶液を，フェノール系溶媒を用いて前記の如く展開した結果，R_f 値 0.9～1.0 にニンヒドリンと反応するスポット（燐脂質と考えられる）が 1 個認められたのみで，遊離アミノ酸は検出されなかつた。

脂肪酸： 血合筋及び普通筋の区分－3 及び 5 を 2 N KOH－エタノールで 1 時間鹸化して混合脂肪酸を分離した。これらを Herb ら[7]の方法により 21 % KOH－グリコールで異性化して紫外部吸収をみたが，ポリエンの存在は殆ど認められなかつた。次に血合筋の区分－3 及び 5 の混合脂肪酸は沃素価が高いので，これを鉛塩エタノール法により固体酸と液体酸に分別した。これらの結果を Teble 3 に示す。

普通筋の各区分の混合脂肪酸及び血合筋の各区分の固体酸を井上らの方法[8]により 2.4－ジニトロフェニールヒドラチドとし，これらのペーパークロマトグラフにより飽和酸を検索した。次に，普通筋の各区分の混合脂肪酸及び血合筋の各区分の液体酸を野田らの方法[9]により，メチルエステルから醋酸第2水銀附加物を生成し，このペーパークロマトグラフにより不飽和酸を検索した。これらの結果を Table 4 に示す。

Table 3. Fatty Acids of Cephalins

Cephalin of		Cephalin g	Yield of acids g	Mixed acids		Solid acids			Liquid acids		
				Neutr. no.	Iodine no.	%	Neutr. no.	Iodine no.	%	Neutr. no.	Iodine no.
Dark-colored muscle	Fr. 3	0.90	0.54	207.0	95.0	61.7	210.8	22.3	38.3	203.5	185.0
	Fr. 5	0.75	0.44	205.0	94.0	48.3	208.7	21.7	51.7	205.0	170.3
Ordinary muscle	Fr. 3	1.58	1.06	207.1	30.5	—	—	—	—	—	—
	Fr. 5	0.22	0.13	206.3	28.8	—	—	—	—	—	

考　　察

ケファリンの組成： 血合筋及び普通筋の粗ケファリン区分は Table 1 及び 2 の結果からみて，非常に微量のアセタール脂質の存在が認められたが，主成分は Phosphatidyl serine，Phosphatidyl ethanolamine 及び少量のイノシット含有脂質の 3 種と考えられる。次にこれらの分別結果は両筋肉のケファリンで比較的相似して，何れも区分－1にイノシット燐脂質が濃縮されており，また区分－1のグリセリン含量の低いことから考えてこれらのイノシット含有脂質中にはグリセリンを含まないものの存在が推測される。区分－3は Phosphatidyl serine に富み，区分－5は Phosphatidyl ethanolamine に富むものであり，区分－2及び4はこれらの混合物と考えられる。この結果は，Lovern ら[2]のハドック及びタラ筋肉から主として Phosphatidyl ethanolamine を認め，Phosphatidyl serine が殆ど存在しないという結果とかなりの相違を示す。また両者のケファリンの区分－2～4の水解物にスレオニンの存在を認め，[illegible]脂質のペーパークロマト[illegible]

Table 4. Composition of Component Fatty Acids of Cephalins

		Component fatty acids of			
		Dark-colored muscle		Ordinary muscle	
		Fr. 3	Fr. 5	Fr. 3	Fr. 5
Saturated acids*	%	46.4	36.7	66.1	68.0
	C_{16}	++	++	++	++
	C_{18}	+	+	±	±
Unsaturated acids**	%	53.6	63.6	33.9	32.0
	C_{16} (−2 H)	±	±	±	±
	C_{18} (−2 H)	+	+	++	++
	C_{18} (−4 H)	+	+	−	−
	C_{18} (−6 H)	+	+	−	−

* Identified as 2,4-dinitrophenylhydrazides by paper chromatography[8]. Paper : Toyo No. 2. Moving phase : 90 % Methanol-acetic acid-tetralin (10 : 2 : 1). Stationary phase : Tetralin.
** Identified as mercuric acetate complexes by paper chromatography[5]. Paper : Toyo No. 50. Moving and stationary phases are the same as dinitrophenylhydrazides of saturated acids.

グラムに遊離アミノ酸又はアミンの存在を認めなかつたことから，このスレオニンが脂質構成分としてそれらの分子内で結合状態にあることが推定されるという新知見を得た。

ケファリン構成脂肪酸：普通筋ケファリンの各区分は不飽和酸としてモノエチレン酸のみを含み，かつ高度不飽和酸が存在しないことが予め確認されているので，普通筋各区分混合脂肪酸中の不飽和酸を一応オレイン酸のみとしてその沃素価から飽和酸と不飽和酸の量を算出した。また血合筋各区分の固体酸より同様に飽和酸と不飽和酸量を算出し，後者と液体酸の和を全不飽和酸として得たケファリン各区分の構成脂肪酸組成を Table 4 に示す。全区分の飽和酸の大部分がパルミチン酸で，少量のステアリン酸をも含み，血合筋ケファリンは普通筋のそれに比して不飽和酸を高率に含む。また不飽和酸としても普通筋ケファリンはモノエチレン酸のみを有するのに対して，血合筋のそれはこれらの他にリノール酸を含み，液体酸の沃素価もジエン酸のそれに相当する。このように血合筋の脂質構成脂肪酸が普通筋のそれらに比してより不飽和であることはアセトン可溶区分及びレシチンにても認められたことである[1]。またレシチンに比して何れも不飽和度の低いことも注目される。

要　　　　約

マグロ血合筋及び普通筋からケファリン区分を分離し，クロロホルム—無水エタノール分別沈澱を行つてそれぞれイノシット含有燐脂質，セリン含有燐脂質，2—アミノエタノール含有燐脂質に富む区分を分離した。また加水分解物中に微量のスレオニンの存在を認め，ペーパークロマトグラフによりこれが脂質に結合していることを推定した。ケファリンの構成脂肪酸としてはパルミチン酸，ステアリン酸，ゾーマリン酸、オレイン酸の他，血合筋にのみリノール酸，リノレン酸が存在し，かつ血合筋のケファリンが普通筋のケファリンに比して多量の不飽和酸を含むことをみた。

本研究は文部省科学研究綜合研究“魚類の血合肉と普通肉の生化学的研究”の分担として行つた。

文　　　　献

1) 五十嵐久尚・座間宏一・片田宗男：本誌，**22**，787，791 (1957)；
2) J. A. Lovern et al.: *Biochem. J.*, **54**, 128, 559；**55**, 686 (1952)；**57**, 610 (1954)；**62**, 99 (1956).
3) O. Bähr, O. Wille: *Fischwirtschaft*, **7**, 129 (1931)
4) M. Kaucher, H. Galbraith, V. Button, H. H. Williams: *Arch. Biochem.*, **3**, 203 (1943).
5) J. Folch: *J. Biol. Chem.*, **146**, 35 (1942).
6) L. Hough: *Nature*, **165**, 400 (1950).
7) S. F. Herb, R. W. Riemenschneider: *Anal. Chem.*, **25**, 953 (1953).
8) Y. Inoue, M. Noda: *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **19**, 214 (1955).
9) 野田万次郎・平山修・井上吉之：農化，**30**，106 (1956).

水産動物筋肉のコリン含量について*

森 高次郎・鴻巣章二・宮川昭次
(東京大学農学部)

Choline Content of the Muscle of Aquatic Animals

Takajiro MORI, Shoji KONOSU and Shōji MIYAGAWA

The microbiological assay method of choline devised by HOROWITZ was adopted after a slight modificatien. The total nitrogen was found to be applicable as an index of the growth of the test organism, *Neurospora crassa cholineless mutant* No. 34486 (Figs. 1 and 2), instead of the dry weight, which had been adopted by the original authors.

The muscles of eight different aquatic animals were analyzed and the results obtained are given in Table 2. The ordinary muscle revealed a considerably constant level of total choline, ranging between 0.4 and 0.6 mg. per g. on wet basis, but the level was two to three times higher in the red muscle of yellow tail and the deep-seated red muscle of big eye. The squid muscle also showed a rather high value of total choline, whereas the octopus muscle was nearly the same as the ordinary muscle of fish.

Free choline content, on the other hand, was very low through the muscles tested, with the exception of fresh clam and the stored squid in frozen state.

コリンはメチル基転位の一端をにない、生化学上重要な意義を有し，ビタミンB群の一員に数えられており，更に研究の進展と共にその生理的意義は益々重要視されつゝある。然し水産物中のコリン含量に関する報告は極めて少く，魚介類のこのビタミンに関する栄養価並びに水棲動物におけるコリンの生理的意義を考察する資料が不足している。従つて，著者等はこの欠陥を補うため本研究を企てた。

又，水産物についてこれ迄なされたコリンの定量は，すべてライネック塩による比色[1]等，化学的定量法によつている。化学的定量法が信頼性に乏しいことは現在周知の事実で，この点でも再検討を要するものと思われる。我々はより精度の高い方法，即ち HOROWITZ により確立された *Neurospora crassa cholineless mutant* を用いる微生物定量法を採用することにした。この方法は，菌体の成育量を見るのに菌体の乾燥重量によつているが，著者等はこれを菌体の総窒素量に代え得ることを確め，この点を修正して用いた。ここに定量法の吟味の結果と，数種の魚介類筋肉について得た測定結果を報告する。

実　　験

方法は大略 HOROWITZ[2] 等に従つて次の如く行つた。

1. 使用菌株と基礎培地

使用菌株は *Neurospora crassa cholineless mutant* No. 34486 で STANFORD 大学より分与を受けた。基礎培地は原報通りである。然し原報には B, Mo, Fe, Cu, Mn, Zn 等の金属イオンの濃度が[illegible]られていないので，参考のために筆者等が用いた塩類の種類と濃度を Table 1 にあげる。

2. 培養

培養法は原報通りで，培養後 100°C，5分間加熱して菌を殺し，次に述べる方法で標準曲線を作製した。

3. 標準曲線の作製

標準品としては，メルク製塩化コリンを用いた。原法では菌の発育量を見るのに，菌体の乾燥重量によつているが，菌体の窒素含量で生育量を測定することを考えた。先ず菌体重量と菌体の全窒素量との関係を調

1957 年7月 17 日受理

* 本報告は昭和 31 年4月及び 32 年4月，水産学会年会において発表した。

Table 1. Composition of Basal Medium*

NH_4-tartarate	5 g/l	Salt Solution :	
KH_2PO_4	1 〃	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	879 mg/l
NH_4NO_3	1 〃	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	39 〃
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 〃	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	8 〃
NaCl	0.1 〃	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	100 〃
$CaCl_2$	0.1 〃	$Na_2M_oO_4 \cdot 2H_2O$	5 〃
Sucrose	20.0 〃	$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	35 〃
Biotin	5 γ/l		
Salt Solution	10 ml/l		

* Adjusted pH 5.6 with secondary sodium phosphate solution.

べるため培養後の菌体を 20～30 mm Hg, 50°C で恒量に達する迄乾燥して，重量を測定したものを直ちに常法により分解，全窒素量を測定した。その結果 Fig. 1 のごとく両者は全く比例することが判つた。従つて以後菌体の全窒素量によつて発育量を見ることにした。Fig. 2 にその典型的な標準曲線を示す。

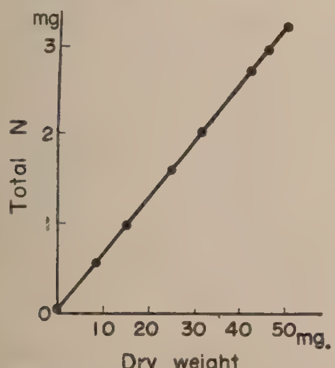


Fig. 1. Relation between dry weight and total N of the mutant.

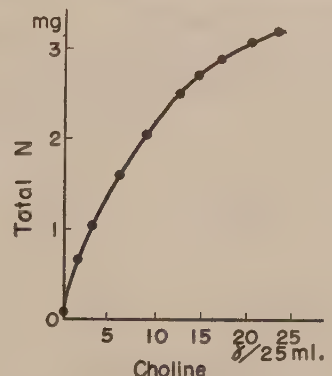


Fig. 2. A typical standard curve.

4. 定量阻害物質の除去

定量菌はコリン以外のメチル基を有する物質，特にメチオニンに対して活性を示すので，供試液を予めパームチット処理して阻害物質を除いた。方法は原報を多少修正し，次の如く行つた。

直径 0.6 cm のカラムに活性パームチット[3] を 5.0 cm の高さに充填し，試料溶液 5～10 ml をカラムに加える。蒸溜水 20 ml を流下させると，メチオニン等は溶出する。次いでカラムに吸着したコリンを 10 % 食塩水 25 ml にて溶出させる。流下速度はいずれも 1 分間 0.3 ml 程度である。本操作中のコリンの回収率は 97.5 %であり，又メチオニン 1 mg を用いた際に，その 97～98 %が除かれる事を確認した。

5. 試料調製

全コリン　Horowitz 等[2] の方法に従つて行つた。

遊離コリン　レシチン等は定量菌に対して活性を示すため，Luecke, Pearson[4] の方法に従つて次の如く抽出した。即ち，ホモゲナイズした試料 10 g を秤取し，1 %醋酸ソーダ溶液 (pH 4.6) 50 ml を加え，80°C にて 1 時間加温抽出した後，アセトン処理を行つて生ずる沈澱を除いた後，上澄の一部について上記パームチット処理を行い，定量に供した。

実　験　結　果

上述の方法に従つて，魚介類の筋肉中のコリン含量を測定した結果は Table 2 の通りである。供試試料は可及的新鮮品を魚市場より入手した。スルメイカの冷凍品は，新潟に水揚凍結されたものを 6 ケ月後に分析

Table 2. Choline Content of the Muscle of Aquatic Animals (On wet basis)

Species	Kind of Muscle*	Choline Total (mg/g)	Choline Free (γ/g)
ブリ *Seriola quinqueradiata*	RM OM	1.36 0.59	4.6 2.9
メバチ *Parathunnus sibi*	DRM SRM OM	1.04 0.53 0.37	17.0 2.2 1.0
マアジ *Trachurus japonicus*	OM	0.57	1.9
マイワシ *Sardinia melanosticta*	OM	0.67	2.8
ナメタカレイ *Mierostomus stelleri*	OM	0.43	8.0
スルメイカ（新鮮） *Ommastrephes sloani pacificus*	Mantle	1.08	0.7
〃 （冷凍）** 〃	Mantle	1.01	91.0
マダコ *Octopus vulgaris*	Mantle & Arm	0.47	Trace
ハマグリ *Meretrix luzoria*	Edible portion	0.58	73.0

* OM : Ordinary muscle, RM : Red muscle, SRM : Superficial red muscle, DRM : Deep-seated red muscle.

** Stored in frozen state for 6 months.

した。またマダコは千葉県小湊で漁獲されたものを直に凍結し，約 30 時間後に処理した。

全コリンは魚類普通肉に於ては，生肉 1 g 中 0.4～0.6 mg でほゞ一定した値を示している。表面血合肉は魚類普通肉と大差はないが，ブリの血合肉及びメバチの深部血合肉は何れも普通肉の 2～3 倍存在する。

一方、スルメイカ筋肉は新鮮品及び冷凍品共に生肉 1 g 中 1.0 mg 前後で、魚類普通肉のほゞ 2 倍前後にも達し極めて多い。同じ軟体類であるマダコ，ハマグリが共に魚類筋肉とほゞ同程度の含量を示すことから見て，イカ類の一つの特性と考えられる。

遊離コリンは冷凍イカを除き，新鮮品には何れも少く全コリンの 0.3～0.4 %程度であつた。

菌を Stanford 大学より分与を受け得たのは，東大農芸化学科有馬助教授の御好意によるものであり，また研究費の一部は，文部省科学研究費に仰いだ。共に記して感謝の意を表する。

文　献

1) D. Glick : J. Biol. Chem., **156**, 643 (1944).
2) N.H. Horowitz and G.W. Beadle : J. Biol. Chem., **150**, 325 (1943).
3) A.O.A.C. 1955, p. 820.
4) R.W. Luecke and P.B. Pearson : J. Biol. Chem., **155**, 507 (1944).

雑　　　録

○緊急役員会

1. 開催日　昭和 32 年 8 月 24 日
2. 場　所　東京水産大学会議室
3. 出席者　評議員　8 名
　　　　　理　事　13 名
4. 議　事

日本水産学会より日本学術会議に対して，漁業資源学研究所（仮称）の設置を申し入れた事に関し，日本学術会議員森高次郎氏から，日本学術会議と日本水産学会との間の連絡を緊密にして，研究所設置の実現を図りたい。尚日本学術会議第 6 部会が 8 月末に開かれるので，至急実行委員会を設けられたいとの要望があつた。

緊急役員会に於ける決定事項

1. 漁業資源学研究所（仮称）案の起草委員会は任務終了したので解散する。
2. 案を学術会議に提出すること及びその後学術会議又は他学会と折衝を行い水産学会の趣旨を強く研究所の性格に盛り込むために実行委員会を設ける。
3. 委員長　田内森三郎氏
   委　員　森　高次郎　　東　　秀雄　　関根　　隆　　松江　吉行　　中井甚二郎
   　　　　稲葉伝三郎　　檜山　義夫　　高山　重嶺　　久保伊津男　　松浦　文雄
   　　　　栗田　　晋　　以上各氏
4. 事務的事項を補佐するため幹事を置く。
5. 委員会活動に必要な経費は日本水産学会から支出する。

○9 月理事会

1. 開催日　昭和 32 年 9 月 10 日
2. 場　所　東京水産大学会議室
3. 出席者　田内会長，理事 20 名
4. 議　事
   a. 昭和 32 年度秋期大会（函館）の時に開かれる評議員会に提出する為，昭和 32 年の修正予算を作ることゝした。
   b. 日本水産学会々則を研究し，改正を必要とする条項があれば改正案を作成するため，会則改正委員会を設ける事とし，会長指命で委員 12 名が決定した。
   c. 原子力シンポジューム（昭和 33 年 2 月開催）打合せ会出席者に，森高次郎氏をお願いした。
   d. 入会希望者承認　　個人　17 名
   　　　　　　　　　　賛助　18

昭和三十二年九月二十日 印刷
昭和三十二年九月二十五日 発行

第二十三巻 第五号

本号定価 110円
(送料別)

編集兼発行者 松江吉行
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
発行所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振替口座 東京 59529番

印刷者 篠原収二
印刷所 東海出版印刷株式会社
発売所 東海出版印刷株式会社
東京都中野区江古田3の1223
電話 中野 (38) 4101・9108

